

Institut für Veterinärbakteriologie
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Max M. Wittenbrink

**Analyse von drei Testsystemen zur Prüfung der
Antibiotikaempfindlichkeit von tiermedizinisch relevanten
Bakterien mit Erfassung der regionalen Resistenzlage**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Larissa Karin Vicart-Fuchs

Tierärztin
von Greifensee ZH und Basel BS, Schweiz

genehmigt auf Antrag von

PD Dr. med. vet. Ludwig E. Hoelzle, Referent

PD Dr. med. vet. Anton Fürst, Korreferent

Zürich 2009

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	III
Summary	III
Einleitung.....	1
Literaturübersicht	2
1 Geschichte der Bekämpfung bakterieller Krankheitserreger.....	2
2 Ursachen der Resistenzentwicklung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen.....	4
2.1 Unkritische therapeutische Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika.....	4
2.2 Einsatz von Antibiotika und Chemotherapeutika in der Tierzucht	5
2.3 Grundmechanismen der Entstehung und Ausbreitung resistenter Bakterien- Populationen.....	6
3 Mechanismen/Art von Resistenzeigenschaften.....	9
4 Notwendigkeit der Empfindlichkeitstestung pathogener Erreger gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika in vitro.....	11
4.1 Multiresistente Infektionen in der Humanmedizin	11
4.2 Aktuelle Daten aus der Schweiz	12
4.3 Resistenzproblematik in der Tiermedizin	13
5 Definitionen.....	15
6 Methoden der Empfindlichkeitstestung bakterieller Erreger gegenüber Antibiotika	16
6.1 Agardiffusion	17
6.2 Bouillondilution	18
Material und Methoden	20
1 Dokumente	20
2 Stammsammlung.....	20
2.1 Herkunft.....	20
2.2 Lagerung der Stammsammlung	32
3 Überprüfung der Identität der Isolate.....	32
3.1 Anzucht der gesammelten Stämme	32
3.2 Gramfärbung.....	33
3.3 Biochemische und immunologische Differenzierung.....	34
3.4 DNS-Amplifikation und Sequenzierung	34
4 Inokulum für die Empfindlichkeitsprüfung der Bakterien gegenüber antimikrobiell wirksamen Substanzen.....	37
4.1 Material	37
4.2 Durchführung	37

5	Agardiffusion.....	38
5.1	Material	38
5.2	Durchführung	39
6	Bouillondilution	41
6.1	Material	41
6.2	Durchführung	41
7	Qualitätskontrolle	43
7.1	Material	43
7.2	Durchführung	43
	Ergebnisse.....	44
1	Evaluation einer alternativen Testmethode für die Routinediagnostik am Institut für Veterinärbakteriologie in Zürich.....	44
1.1	Wahl des geeigneten Testverfahrens	44
1.2	Auswahl der antimikrobiellen Wirkstoffe	44
1.3	Gestaltung der gewählten Testverfahren.....	46
1.4	Validierung der gewählten Testverfahren	48
2	Darstellung der Resistenzsituation von tierpathogenen Bakterien aus Proben von Zürich und Umgebung	60
2.1	Grampositive Bakterien	60
2.2	Gramnegative Bakterien	71
	Diskussion	79
1	Evaluation verschiedener Testmethoden zur Empfindlichkeitsprüfung tierpathogener Bakterien gegen Antibiotika und Chemotherapeutika <i>in vitro</i>	79
2	Resistenzsituation bei tierpathogenen Bakterien in Zürich und Umgebung.....	85
2.1	Grampositive Bakterien	86
2.2	Gramnegative Bakterien	90
3	Fazit über die Analyse von drei Testmethoden zur Prüfung der Antibiotikaempfindlichkeit von tiermedizinisch relevanten Bakterien und die regionale Resistenzlage	95
	Anhang	96
1	Tabellen.....	96
2	Qualitätskontrollen	107
3	MHK-Resultate.....	113
3.1	Grampositive Bakterien	113
3.2	Gramnegative Bakterien	128
	Literaturverzeichnis	141
	Danksagung	148

Zusammenfassung

Die gezielte und gewissenhafte Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika hat mit der weiten Verbreitung multiresistenter Erreger immer mehr an Bedeutung gewonnen. Ein präzises und verlässliches Antibiotogramm muss Bestandteil jeder bakteriologischen Diagnostik sein. Um diese Dienstleistung weiterhin zu gewährleisten, wurde der aktuelle Routinetest am Institut für Veterinärbakteriologie in Zürich, ein kommerzieller Breakpointtest, mit der altbewährten Agardiffusion und der heute weit verbreiteten Bouillondilution verglichen. Ein Mikrodilutionstest wurde dafür spezifisch auf die Situation in Zürich und Umgebung angepasst. Sowohl bei internen als auch externen Kontrollen zeigte sich der Mikrodilutionstest als am besten reproduzierbar. Er war zuverlässiger und genauer als der aktuelle Routinetest und die Agardiffusion. Das erarbeitete und überprüfte Layout wurde deshalb in die Routinediagnostik eingeführt. Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Resultate wurden genutzt, um einen Überblick über die aktuelle Resistenzsituation in Zürich und Umgebung zu erhalten. Ein umfassenderes Monitoring soll zukünftig auf problematische Entwicklungen hinweisen und einen noch gezielteren Umgang mit Antibiotika und Chemotherapeutika ermöglichen. Die ersten Ergebnisse zeigen insbesondere multiple Resistenzen bei *Pseudomonas aeruginosa*, nicht-hämolysierenden *Escherichia coli*, *Enterococcus* species und *Staphylococcus pseudintermedius*.

Summary

Purposeful and conscientious application of antibiotics and chemotherapeutical agents continuously gained in significance as multi-resistant bacteria spread. Bacteriological diagnostics need a precise and reliable susceptibility test. Therefore the commercial breakpoint test currently used at the Institute of Veterinary Bacteriology in Zurich was compared to well-tried agar diffusion and a common bouillon dilution assay. A microdilution test was specifically adapted to the situation in Zurich and its vicinity. In internal as well as external controls the microdilution assay showed the best reproducibility. Indeed, it was more reliable and exact than the current routine test or the agar diffusion method applied. Therefore, the compiled and examined layout was introduced to routine diagnostics. The resistance profile results were used to summarize the present situation in Zurich and its vicinity. A more extensive monitoring should be aimed at in order to detect problematic developments and to handle antibiotics and chemotherapeutic agents more focussed. First results show particularly multiple resistances with *Pseudomonas aeruginosa*, nonhaemolytic *Escherichia coli*, *Enterococcus* species, and with *Staphylococcus pseudintermedius*.

Einleitung

Antibiotika gehören weltweit zu den am häufigsten verwendeten Pharmaka. Als Folge ihrer grossflächigen Anwendung, v.a. in der industrialisierten Tierproduktion, emergiert die Problematik der Antibiotikaresistenzen bei Bakterien.

Der Bund hat mit dem Verbot von Antibiotika zur Leistungsförderung bei Masttieren bereits einen wichtigen Schritt unternommen. Doch auch die Anwendung von Antibiotika in der Medizin muss kritisch betrachtet werden. Noch allzu oft werden Antibiotika pauschal bei jeglichen fieberhaften Erkrankungen eingesetzt. Die Entwicklung weiterer Resistenzmechanismen wird durch solch unkritische Anwendung regelrecht provoziert.

In den Krankenhäusern etablieren sich nosokomiale Erreger, die gegen sämtliche gängigen antimikrobiellen Wirkstoffe resistent sind. Immer häufiger fallen Menschen nicht therapierbaren bakteriellen Infektionen zum Opfer. Bekanntester Vertreter multiresistenter Erreger ist der MRSA (Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*). Die Liste therapieresistenter Bakterien wird jedoch immer länger.

Mögliche Gegenmassnahmen bilden einerseits die Entwicklung neuer Wirkstoffe oder gar neuer Bekämpfungsmechanismen. Dafür ist die weitere Erforschung molekularbiologischer Mechanismen der Resistenzeigenschaften von Bakterien unerlässlich. Andererseits muss die Prävention verstärkt werden. Um der weiteren Entwicklung von Resistenzen gegen Antibiotika und deren Verbreitung entgegen zu wirken, ist eine sorgfältige Analyse der aktuellen Situation notwendig.

An der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich gibt es bisher keine nach international anerkannten Richtlinien durchgeführte Studie zur Resistenzlage tierpathogener Erreger gegenüber Antibiotika. Damit fehlt eine valide Datenbasis zur Analysierung zu Grunde liegender Mechanismen und deren Verbreitung innerhalb und zwischen Bakterienspezies.

Dies ist insbesondere von grosser Bedeutung, da unter den tierpathogenen Erregern auch Zoonoseerreger zu finden sind - Erreger, die vom Tier auf den Menschen übertragen werden können und ebenfalls zur Erkrankung führen.

Heute noch gehören bakterielle Infektionen zu den wichtigsten Krankheitsursachen der Haustiere. Unter den tierärztlichen Behandlungsmethoden hat daher die antibakterielle Chemotherapie einen grossen Stellenwert. Deren Erfolg steht in direktem Zusammenhang mit der Qualität des Antibiotogramms. Deshalb ist es erstrebenswert, die Entwicklung neuer Methoden der Empfindlichkeitstestung zu verfolgen und deren Einsatz in der Routinediagnostik zu erwägen. Dazu müssen sie auf ihre Genauigkeit, Zuverlässigkeit, Praktikabilität und ihr Kosten-Nutzen-Verhältnis überprüft werden. Dieser Aufgabe sollte im Rahmen dieser Dissertation Rechnung getragen werden.

Literaturübersicht

1 Geschichte der Bekämpfung bakterieller Krankheitserreger

Der gezielte Kampf gegen bakterielle Infektionen begann, als im 19. Jahrhundert erkannt wurde, dass bestimmte Mikroben bestimmte Erkrankungen hervorrufen. Das Wissen um die bakterielle Genese von Pest, Cholera und Tuberkulose verlangte nach spezifischen Stoffen, die zwar die im Körper des Menschen befindlichen Erreger hemmten oder gar abtöteten, den Menschen selbst hingegen nicht schädigten.

Vor fast hundert Jahren (1909) wurde Salvarsan® entdeckt. Es wird vielerorts als erstes Antibiotikum erwähnt und fand seine Bedeutung in der Bekämpfung der Syphilis [1]. Doch die Nebenwirkungen des Arsderivates waren erheblich und verlangten nach alternativen Wirkstoffen.

1932 entwickelte Gerhardt DOMAGK aus synthetischen Wollfärbemitteln den ersten Vertreter der heute noch eingesetzten Chemotherapeutika-Gruppe der Sulfonamide. Über die experimentelle Infektion von Mäusen mit Streptokokken und deren anschließende Behandlung mit dem gefundenen Wirkstoff bewies er dessen Wirksamkeit. 1935 erschien das erste Präparat Prontosil® (Sulfanilamid) auf dem Markt und weitere folgten [2].

Obwohl Sir Alexander FLEMING 1928 bereits das Penicillin entdeckte, kam es erst einige Jahre nach den Sulfonamiden zur Anwendung. Auf einer Agarplatte, bewachsen mit *Staphylococcus aureus*, beobachtete der schottische Bakteriologe eine Hemmung der bakteriellen Koloniebildung, hervorgerufen durch eine Verunreinigung mit dem Schimmelpilz *Penicillium notatum*. Erst nach Domagks Erfolg mit den Sulfonamiden wurde diesem Phänomen jedoch systematisch auf den Grund gegangen. Rund zehn Jahre nach der Entdeckung gelang es schließlich, aus dem Pilzextrakt das Penicillin zu extrahieren und in Tierversuchen dessen Wirksamkeit zu beweisen. Im Verlauf der 40er Jahre wurden eine ganze Reihe verwandter Wirkstoffe gefunden [3]. Erkrankungen die bisher häufig den Tod bedeuteten, wie Nabelinfektionen bei Neugeborenen oder Lungenentzündungen, konnten geheilt werden.

Ähnlichen Erfolg feierte das 1943 durch die Arbeitsgruppe von Selman A. WAKSMAN in den USA entdeckte Streptomycin. Es wird von *Streptomyces griseus*, einem im Boden vorkommenden Bakterium, produziert und erlaubte erstmals die erfolgreiche Bekämpfung der Tuberkulose [4]. Waksman wird auch die Einführung des Wortes „Antibiotikum“ für die immer zahlreicher werdenden Wirkstoffe, die zur Bekämpfung bakterieller Infektionen geeignet waren, zugeschrieben. Er soll den Begriff 1941 dem Herausgeber der Zeitschrift „Biologic Abstracts“ vorgeschlagen haben [1].

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Entdeckung und die Anmeldung bzw. Zulassung der antimikrobiellen Wirkstoffe [1, 5].

Tabelle 1: Entdeckung und Zulassung antimikrobieller Wirkstoffe im 20. Jahrhundert.

Jahr	entdeckt	angemeldet / zugelassen	in
1929	Penicillin		England
1932	Sulfonamide (Prontosil®)		Deutschland
1939	Gramicidin		USA
1942		Penicillin	England und USA
1943	Streptomycin und Bacitracin		USA
1945	Cephalosporine		Italien
1947	Chloramphenicol, Chlortetracyclin		USA
1949	Neomycin		USA
1950	Oxytetracyclin		USA
1952	Erythromycin		USA
1956	Vancomycin		USA
1957	Kanamycin		Japan
1960		Methicillin	England und USA
1961		Ampicillin	England
		Spectinomycin	USA
1963	Gentamicin		USA
1964		Cephalosporine	England
1966		Doxycyclin	USA
1967		Clindamycin	USA
1970er		Trimethoprim	
2000er		Oxazolidinone, Lipopeptide	

Doch gleichzeitig mit der Entdeckung neuer Wirkstoffe entwickelten die Bakterien Mechanismen, um sich dagegen zu schützen. Natürliche Resistenzeigenschaften, wie z.B. die Unempfindlichkeit gram-negativer Bakterien gegenüber β -Lactam-Antibiotika, bildeten die ersten Hürden. Dazu kamen erworbene Resistenzeigenschaften, die sich über die Selektion resistenter Stämme etablierten. Ab den 70er Jahren nimmt die Anzahl an Publikationen über das Resistenzverhalten von Bakterien und diesen zugrundeliegenden Mechanismen stetig zu [6]. Insbesondere Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*, Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* und β -Lactamase produzierende gram-negative Stäbchen verlangten schon bald nach neuen, klinisch erprobten antimikrobiell wirksamen Medikamenten [6].

2 Ursachen der Resistenzentwicklung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen

Verschiedene Prozesse haben die Entwicklung und Verbreitung resistenter Bakterien-Populationen begünstigt. Als wichtigste Punkte müssen die unkritische Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika sowie deren Einsatz in der Tierproduktion genannt werden. Hinzu kommt, dass die Pharmafirmen verschiedenste Medikamente verwandter Strukturen auf den Markt bringen, welche wegen Kreuzresistenzen rasch ihre Wirksamkeit verlieren. Während von den 30er bis in die 60er Jahre viele neue Wirkstoffklassen auf den Markt kamen, waren es in den vergangenen Jahrzehnten nur noch wenige.

2.1 Unkritische therapeutische Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika

Viele Menschen, die unter einer akuten Infektion leiden, suchen den Arzt auf, in der Erwartung mit Antibiotika behandelt zu werden. Mangelndes Wissen über die Ursache von grippeähnlichen Symptomen und die Illusion, dass Antibiotika all diese Ursachen bekämpfen können, haben zu diesen Missständen geführt. SAMARANAYAKE et al. veröffentlichten 1999 Richtlinien zum Gebrauch von Antibiotika, mit dem Ziel, die Bildung neuer Resistenzen möglichst gering zu halten [7].

Im Jahre 2003 stellten HOLMES et al. ein Projekt vor, mit welchem die unkritische antibiotische Therapie unterbunden werden sollte. Ein erster Schritt galt der Erfassung der Faktoren, die zur übermäßigen Anwendung von Antibiotika führten. In einem zweiten Schritt sollten diese Faktoren ausgewertet und ein Konzept für Gegenmassnahmen erarbeitet werden. Der dritte Schritt sollte darin bestehen, eine Doppelblindstudie zu erarbeiten, die sowohl das Fachwissen, als auch die Erwartungen, Einstellungen und Auffassungen von Patient und Arzt untersucht [8].

Die U.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) führten vom 6. bis 10. Oktober 2008 eine Informationskampagne unter dem Titel „Get Smart About Antibiotics Week“ durch. In einer Richtlinie hielten sie die wichtigsten zu beachtenden Punkte fest:

1. Nehmen Sie keine Antibiotika bei viral bedingten Erkrankungen ein.
2. Verlangen Sie von Ihrem behandelnden Arzt keine Antibiotika-Therapie.
3. Nehmen Sie keine für andere Personen bestimmte Antibiotika ein.
4. Verwenden Sie keine Antibiotika, die Sie von früheren Erkrankungen noch übrig haben.

Dieser Aufruf richtet sich jedoch nicht nur an die Patienten, sondern auch an behandelnde Ärzte, Zahnärzte und Tierärzte. Antibiotika sollen nicht länger als „Wundermittel“ gegen jegliche fieberhafte Erkrankung gelten. Eine sorgfältige Diagnostik ist unabdingbar, um die Indikation einer antimikrobiellen Therapie in Form von Antibiotika zu überprüfen.

Auch der prophylaktische Einsatz von Antibiotika musste neu überdacht werden. Lange Zeit wurden jedem Patienten vor einer chirurgischen Intervention Antibiotika verabreicht, unabhängig davon, ob eine unmittelbare Infektionsgefahr bestand oder nicht. Mittlerweile hat sich die Einteilung jeder einzelnen Operation nach Infektionsrisiko in „sauber“, „sauber-kontaminiert“, „kontaminiert“, „schmutzig“ nach CRUSE durchgesetzt [9]. Unter Berücksichtigung von patienteneigenen sowie prae-, intra- und postoperativen Risikofaktoren, wird über die Anwendung einer antimikrobiellen Prophylaxe entschieden. Dabei wird Wert darauf gelegt,

dass dieselbe Dosis über dieselbe Zeitspanne verabreicht wird, wie sie auch für therapeutische Zwecke gewählt wird [10].

Der Applikation von Antibiotika im Zusammenhang mit Immunsuppression muss ebenfalls besondere Beachtung geschenkt werden. Einerseits sollten während einer antimikrobiellen Chemotherapie gleichzeitig keine Kortikosteroide oder andere Immunsuppressiva verabreicht werden, andererseits bedarf die antimikrobielle Chemotherapie bei immungeschwächten Personen wie Säuglingen, Alten, Schwangeren, krankheitsbedingt Immundefizienten (YOPI: young, old, pregnant, immunodeficient) besonderer Sorgfalt. Gerade in Spitälern, wo immungeschwächte Personen oft über längere Zeit behandelt werden müssen, ist die Gefahr der Resistenzbildung gross.

Ein weiteres Problem bilden überbelegte Krankenhäuser. Personen mit verschiedensten Krankheitskomplexen müssen zusammen ein Zimmer teilen. Der Kontakt zwischen den Patienten ist eng, womit sich die Erreger rasch verbreiten. Es entsteht ein Pool von verschiedensten Mikroorganismen, die Resistenzen weitergeben und übernehmen können (s. Kapitel 2.3 Mechanismen der Entstehung und Ausbreitung resistenter Bakterien-Populationen) [11].

2.2 Einsatz von Antibiotika und Chemotherapeutika in der Tierzucht

Antibiotika und Chemotherapeutika werden in der Tierzucht zu zwei verschiedenen Zwecken eingesetzt. Einerseits werden sie zur Vorbeugung und Kontrolle von bakteriellen Infektionen eingesetzt, andererseits finden sie aber auch Verwendung als Wachstumsförderer bei Nutztieren, welche der Lebensmittel-Produktion dienen.

Die Vorbeugung und Kontrolle von bakteriellen Infektionen kann auf drei verschiedenen Stufen geschehen. Als *Therapie* werden Antibiotika bei nachgewiesenen Infektionen bei Einzeltieren oder einer kleinen Anzahl von Individuen eingesetzt. Sind in einer Herde gewisse Tiere nachweislich infiziert, kann es Sinn machen, die ganze Herde zu behandeln, um einer weiteren Verbreitung der Infektion vorzubeugen. Diese Anwendung wird als *Metaphylaxe* bezeichnet. Des Weiteren werden Antibiotika auch als *Prophylaxe* verwendet. So kann bei Stress verursachenden Situationen, wie dem Absetzen der Ferkel in der Schweinezucht oder dem Zusammenstellen einer neuen Gruppe in der Kälbermast, eine vorsorgliche Verabreichung von antimikrobiellen Futterzusatzstoffen ernsthafte Erkrankungen verhindern. Insbesondere diese letzte Art der Verwendung wird stark kritisiert. Häufig findet die Medikation relativ unkontrolliert statt, so dass viele Tiere nur subtherapeutische Dosen bekommen. Dies fördert nachweislich die Bildung von Resistenzen [12]. Ausserdem ist zu beachten, dass viele in der Veterinärmedizin verwendete Präparate, Wirkstoffe enthalten, die auch in der Humanmedizin eine wichtige Rolle spielen.

Die Verwendung von antimikrobiellen Wirkstoffen zur Wachstums- und Leistungsförderung bei Nutztieren ist mittlerweile in Europa gänzlich verboten, in den Vereinigten Staaten von Amerika jedoch nach wie vor erlaubt und auch rege genutzt. Während in der Schweiz 1999 sämtliche Antibiotika zur Leistungssteigerung verboten wurden, strich die EU vorerst nur einige Präparate, welche Ähnlichkeiten mit humanmedizinisch relevanten Arzneien aufwiesen, von der Liste. Bis Ende 2005 waren noch vier Moleküle zugelassen: Flavophospholipol, Avilamycin, Monensin-Natrium und Salinomycin-Natrium. Nur erstere zwei haben neben der wachstumsfördernden auch eine gute antibiotische und v.a. kokzidiostatische Wirkung. Von

allen vier Wirkstoffen wurde erwartet, dass sie keine Kreuzresistenz mit humanmedizinisch bedeutsamen Antibiotika auslösen können. Zudem bestanden strenge Vorschriften in Bezug auf Zielspezies, Dauer und Dosis der Applikation. Ab dem 1. Januar 2006 sind auch in der EU sämtliche Antibiotika für Zwecke der Wachstumsförderung und Leistungssteigerung verboten [13]. In den USA wurde ein ABF-Label (Antibiotic Free Production) eingeführt. Mit dem Verbot von Antibiotika setzt es eine gesunde Zucht voraus. Die Antibiotikum-freie Tierproduktion findet in Amerika immer mehr Beachtung [14].

2.3 Grundmechanismen der Entstehung und Ausbreitung resistenter Bakterien-Populationen

Es werden drei Grundmechanismen genannt, die zur Entstehung und Ausbreitung resistenter Bakterien-Populationen geführt haben sollen [11]. Dabei werden natürliche Resistenzen von erworbenen Resistenzen unterschieden. Zu den erworbenen Resistenzen gehören einerseits die Mutationen und andererseits die infektiösen Resistenzen.

a) Natürliche Resistenzen

Gewisse Bakterien (v.a. Bodenbakterien) produzieren und sezernieren Stoffe, die die Konkurrenzflora in ihrem Wachstum hemmt oder gar abtötet. Sie selbst sind gegen diese Antibiotika unempfindlich, sie sind „natürlich resistent“. In der Regel sind natürliche Resistenzeigenschaften extrachromosomalen Ursprungs, häufig Plasmid-codiert. Über verschiedene Vorgänge (s. unten) können diese Eigenschaften z.T. auf andere Bakterien-Species und sogar -Genera übertragen werden. Trägt ein Pathogen eine solche „erworbene Resistenz“, kann eine Infektion nicht mehr mit dem Antibiotikum des natürlich resistenten Bakteriums erfolgreich behandelt werden [15].

So ist z.B. *Streptomyces coelicolor* gegen Streptomycin natürlich resistent. Zwei verschiedene Mechanismen haben zu dieser Resistenz geführt: Die Typ I-Resistenz wird durch eine Mutation des *rpsL* Gens, welches das S12 Protein der 30S Untereinheit des Ribosoms kodiert, hervorgerufen. Die Typ II-Resistenz wird durch eine Deletion im *rsmG* Gen, welches ein S-Adenosylmethionin (SAM) bindendes Protein kodiert, verursacht. Diese Mutation verhindert einerseits die Produktion dieses nicht essentiellen Enzyms und veranlasst gleichzeitig eine Überproduktion von Actinorhodin. Des Weiteren fehlt eine spezifische Methylierung der 16S rRNA, welche direkt mit Streptomycin interagiert [16]. Es wird von Mutationen gesprochen, weil der jeweils andere Resistenztyp diese Eigenheit nicht aufweist. Ohne diese „Mutationen“ könnten sie aber nicht gegenüber dem selbstproduzierten Antibiotikum bestehen. D. h. dass die Fähigkeit zur Streptomycin-Produktion und die Resistenz dagegen parallel entstanden sein mussten. Dieses Phänomen wird als natürliche Resistenz erachtet.

Es wird angenommen, dass diese natürlichen Resistenzen auf andere Bakterien übertragen werden können. Bisher ist jedoch noch unklar, wie die Verbreitung solcher natürlichen Resistenzen gewichtet werden muss [17].

Im „Annual Review of Biochemistry“ wurde 1973 eine Liste von Antibiotika und anderen antibakteriellen Agentien publiziert, gegen welche natürliche Resistenzen beobachtet wurden (s. Tabelle 2) [18].

Tabelle 2: Natürliche, antibakteriell wirksame Agentien

Aminoglykoside:	β -Lactam Antibiotika:	Chloramphenicol	Schwermetalle:	Bakteriophagen
- Kanamycin	- Penicilline	Tetracyclin	- Nickel	UV-Licht
- Neomycin	- Cephalocporine	Sulfonamide	- Kobalt	Kolizine
- Gentamicin		Erythromycin	- Quecksilber	
- Lividomycin		Lincomycin	- Blei	
- Tobramycin		Trimethoprim		
- Streptomycin				

b) *Erworbene Resistenzen*

Mutation von Genen

Bakterien profitieren von einer sehr kurzen Generationszeit. Viele Bakterien haben innerhalb von 24 Stunden bis zu einer Million Möglichkeiten zu mutieren [15]. Sobald eine solche Mutation im herrschenden Milieu einen Vorteil schafft, etabliert sie sich in der Population innert kürzester Zeit.

Infektiöse Resistenzen

Die Übertragung von Resistenz-codierender DNA zwischen Bakterien verschiedener Spezies wird als infektiöse Resistenz bezeichnet. Es gibt verschiedene Wege, mit welchen genetisch definierte Eigenschaften an andere Individuen weitergegeben werden können. Bei der Verbreitung von Resistenz-Eigenschaften spielen v.a. Plasmide und Phagen mit Transposons und Integrans eine wichtige Rolle. Die infektiösen Genfragmente unterscheiden sich in Grösse, Struktur, biologischen Eigenschaften und Art der Verbreitung.

Plasmide sind extrachromosomale, häufig ringförmig geschlossene doppelstrangige DNA-Moleküle. Sie kommen in fast allen pathogenen Bakterien vor, sind aber auch bei ubiquitären Bakterien weit verbreitet. Ihre Grösse variiert von zwei bis über hundert Kilobasenpaaren. Plasmide zeichnen sich durch ein eigenes Replikationssystem aus. Es ermöglicht ihnen, sich unabhängig vom Chromosom der Wirtszelle zu replizieren [17]. Plasmide können sich auch mit anderen Plasmiden rekombinieren oder in das Zellchromosom anderer Zellen integriert werden. Grössere Plasmide haben häufig die Fähigkeit, eine *Konjugation* zu induzieren. Durch die Konjugation werden sie über einen engen Kontakt zwischen zwei Bakterien gleicher oder verschiedener Spezies von der einen in die andere Zelle geschleust. Plasmide sind für Bakterien nicht lebensnotwendig. Häufig aber führen sie unter gewissen Bedingungen zu Standortvorteilen. Dies kann deren grosse Verbreitung in der Bakterienpopulation erklären.

Eine weitere Form mobiler DNA Elemente stellen die *Transposons* dar. Sie bestehen aus bis zu 60 Kilobasenpaaren und tragen im Minimum die Sequenz für die Transposase. Im Gegensatz zu Plasmiden fehlt ihnen die Fähigkeit zur unabhängigen Reproduktion. Zum eigenen Erhalt müssen sie sich in ein replizierendes Genom wie Plasmide oder Chromosome einbauen. Dazu benötigen sie ihre eigene Transposase. Die meisten Transposons sind wenig oder gar nicht spezifisch für eine gewisse Sequenz. Sie können sich deshalb an vielen

verschiedenen Orten eines Genoms einsetzen [11]. Manche grössere Transposons können z.B. mit Plasmiden über den Vorgang der *Konjugation* zwischen verschiedenen Bakterien ausgetauscht werden.

Genkassetten stellen die dritte Gruppe beweglicher Gensequenzen dar. Sie haben weder die Fähigkeit der unabhängigen Replikation noch der eigenständigen Transposition. Ortsabhängig lassen sie sich in *Integrone* aufnehmen. Diese sind Transposon ähnliche Moleküle, die am 5' Ende eine Integrase für die Aufnahme der Genkassetten und einen Promotor für deren Expression besitzen. Am 3' Ende tragen sie in der Regel noch eigene Resistenzgene. Eingebaut in Integrone können sich Genkassetten wie Transposons in Plasmiden mittels *Konjugation* verbreiten [11].

Gewisse Bakterien wie *Streptococcus pneumoniae* oder *Bacillus* ssp. können freie DNA von lysierten Zellen aufnehmen und diese in ihr Genom integrieren. Inwiefern dieser Prozess der *Transformation in vivo* zur Verbreitung von Resistenzeigenschaften beiträgt, ist noch unklar. Er soll jedoch für die meisten *in vitro* auftretenden Resistenzphänomene verantwortlich sein [11].

Die *Transduktion* kann bei der Vermehrung von Bakteriophagen (insb. Lambda-Phagen) stattfinden. Bakteriophagen sind bakterienspezifische virale Partikel. Sie injizieren ihre DNA in die Wirtszellen, wo sie ins Chromosom eingebaut wird und die Produktion neuer viraler Partikel induziert. Entweder es folgt die Lyse der Wirtszelle (lytischer Zyklus) oder die DNA verharrt vorerst als inaktiver Prophage (lysogener Zyklus). Äussere Faktoren wie UV-Strahlung können Prophagen aktivieren. Dabei werden manchmal Resistenzgene, welche nahe der Insertionsstelle des Phagen liegen, mit dessen Chromosom ausgeschnitten. Der Phage ist Träger des Resistenzgens und kann dieses an weitere Wirtszellen weitergeben. Weil Bakteriophagen spezifisch für ihren Wirt sind, spielt dieser Mechanismus der Resistenzverbreitung vor allem innerhalb einer Spezies eine grosse Rolle [11].

3 Mechanismen/Art von Resistenzeigenschaften

Es sind verschiedene Mechanismen bekannt, die Bakterien vor der Wirkung antimikrobieller Stoffe schützen:

a) *Veränderung der Zielstruktur auf genetischer Ebene*

Durch Mutationen werden die Angriffspunkte der antimikrobiellen Chemotherapeutika so verändert, dass diese ihre Zielstruktur nicht mehr binden und so ihre Wirkung nicht entfalten können.

Bsp.: Gewisse Vancomycin-resistente Stämme bilden im Mureingerüst der Zellwand statt D-Alanyl/D-Alanin-Verbindungen D-Alanyl/D-Lactat- oder D-Alanyl/D-Serin-Verbindungen. Vancomycin kann nicht mehr binden und ist deshalb wirkungslos [19].

b) *Veränderung der Zielstruktur durch posttranslationale/posttranskriptionale Modifikation*

Die Veränderung der Zielstruktur findet erst ein bis zwei Schritte später statt. Der Resistenzmechanismus ist identisch.

Bsp.: Die Modifikation eines Asparaginsäure-Restes im ribosomalen Protein S12 der 30S Untereinheit kann bei *E. coli* Stämmen zu einer Resistenz gegen Streptomycin führen [18].

c) *Reduktion der Aufnahme*

Die Zellwand der Mikroben ist nicht oder nur schwer für das jeweilige Chemotherapeutikum passierbar.

Bsp.: Viele Antibiotika können die säurefeste Zellwand der Mycobakterien nicht penetrieren. Auch die äussere Membran gram-negativer Bakterien ist weder für Penicillin G noch für Vancomycin permeabel. Es wurde auch ein R-Faktor beschrieben, welcher Tetracyclin-Resistenz vermittelt. Der Transport des Stoffes in die bakterielle Zelle wird bei Trägern dieses R-Faktors verhindert [18]. FRANKLIN et al. (1971) haben gezeigt, dass die ursprünglich schwache Tetracyclin-Resistenz von R^+ -*E. coli* Stämmen etwa um das Zehnfache erhöht werden kann, wenn sie zuvor subinhibitorischer Konzentration von Tetracyclin ausgesetzt werden. Die Forschungsgruppe leitet davon ab, dass die R-Faktor vermittelte Resistenz durch die Induktion eines Inhibitors des Transportsystems, welches Tetrazyklin in die Zelle schleust, zurückzuführen ist [20].

d) *Efflux-Pumpen*

Eine Reihe antimikrobieller Agenzien interagiert mit natürlicherweise vorhandenen Transportwegen und wird dadurch aus der bakteriellen Zelle herausgeschleust. Die geringe Spezifität dieser Pumpen führt zu Multidrug-Resistenzen.

Bsp.: Li et al. (1994) ist es gelungen durch eine Knock-out Mutation von *Pseudomonas aeruginosa* eine solche Efflux-Pumpe zu inaktivieren. Der ursprünglich gegen Tetracyclin, Chloramphenicol und Fluorochinolone resistente Stamm, war nach Mutation gegenüber diesen Antibiotika sensibel [21].

e) *Inaktivierende Proteine*

In Form von Enzymen bauen Proteine Wirkstoffstrukturen um, die für Bindung und Wirkung des antimikrobiellen Stoffes zuständig sind.

Bsp.: β -Lactamasen hydrolysieren Teile des β -Lactam-Ringes, womit gängige β -Lactam-Antibiotika (Penicillin u.a.) nicht mehr an die Zielproteine (PBP: Penicillin Binding Protein)

binden können. Entsprechende Schutzfaktoren bei *Escherichia coli* sind die ESBL (extended spectrum beta lactamases), die sowohl Penicilline wie auch Cephalosporine hydrolysieren und damit inaktivieren [22].

f) *Überschussproduktion*

Der bakterielle Organismus erhöht die Produktion der Zielstruktur über die Bindungs- bzw. Inaktivierungs-Kapazität des Antibiotikums hinaus.

Bsp.: Wird die Produktion der PBP (D-Alanyl-D-Alanin Trans- und Carboxypeptidasen) über die Menge des antimikrobiellen Wirkstoffes erhöht, bleibt genügend aktives Enzym, um den Erhalt der bakteriellen Zellwand zu gewährleisten [23]. Auch *Pseudomonas aeruginosa* hat einen Schutzmechanismus gefunden, der auf Überproduktion beruht. Die erhöhte Produktion eines äusseren und eines inneren Membranproteins, senkt die Permeabilität der Membran [24].

g) *Alternative Stoffwechselwege*

Viele Antibiotika entfalten ihre Wirkung indem sie fürs Bakterium lebenswichtige Enzyme hemmen. Diese können z.T. durch andere, Plasmid-codierte Enzyme ersetzt werden.

Bsp.: Trimethoprim hemmt die Dihydrofolat-Reduktase. Ein Enzym, das für die Bildung von Folsäure unerlässlich ist. Ohne Folsäure kann jedoch keine DNA mehr gebildet werden. Ein Plasmid-kodiertes Enzym kann den Schritt der Dihydrofolat-Reduktase übernehmen [11].

h) *Erhöhte Mutationsrate*

Die Fähigkeit der DNA-Polymerase zur Fehlerkorrektur kann durch Exprimierung bestimmter Faktoren gesenkt werden. Eine erhöhte Mutationsrate steigert die Wahrscheinlichkeit der Bildung resistenter Varianten.

Bsp.: Durch die Deaktivierung des Mutationsfaktors *lexA* von *E. coli*, konnte die Resistenzbildung gegen Ciprofloxacin verhindert werden. *lexA* senkt die Expression der DNA Polymerasen II, IV und V [25].

i) *Bildung von Biofilmen*

Zwar ist der genaue Mechanismus der Biofilme noch nicht geklärt. Es wird jedoch vermutet, dass die Ansammlung von Mikroorganismen und deren Einbettung in Schleim die Übertragung von genetischem Material vereinfacht. Auch die Absonderung verschiedener Substanzen in die umgebende Matrix konnte beobachtet werden.

Bsp.: Eine Studie von PAMP et al. (2008) zeigt, dass in Biofilmen wachsende Pseudomonaden je nach Aktivität der Zelle unterschiedlich auf Colistin reagieren. Aktive Zellen sind Colistin-resistent, inaktive Zellen hingegen sensibel [26].

4 Notwendigkeit der Empfindlichkeitstestung pathogener Erreger gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika in vitro

4.1 Multiresistente Infektionen in der Humanmedizin

„Jedes Jahr wird in der Schweiz bei etwa 1000 Spitalpatienten eine schwere Infektion mit einem antibiotikaresistenten Bakterium diagnostiziert, mindestens 80 Fälle verlaufen tödlich. Die geschätzten Kosten belaufen sich jährlich auf mehrere zehn Millionen Franken.“ (Zitat: Pressemitteilung der Abteilung Kommunikation der Universität Bern: *Infektionen trotzen Antibiotika immer häufiger*, vom 12. 4. 2007) [27].

Experten kündigen eine „post-antibiotische“ Ära in naher Zukunft an. Viele bakterielle Erkrankungen würden der multiplen Resistenz wegen nicht mehr behandelt werden können [7].

1998 rief die WHO ihre Mitgliedstaaten dazu auf, im Bereich der Resistenzproblematik die Überwachung, Information und Umsetzung zu forcieren. Daten über die Prävalenz von resistenten Organismen und die Applikation von Antibiotika in der Humanmedizin sollen systematisch gesammelt werden.

Im Juni 1999 bewilligte der Bund einen Kredit von 12 Millionen Schweizer Franken über 5 Jahre für ein Nationales Forschungsprogramm „Antibiotikaresistenz“ (NFP 49) [28].

Die Ziele waren:

1. eine Übersicht der Resistenzsituation in der Schweiz zu geben und die damit verbundenen Risiken einzuschätzen.
2. eine wissenschaftliche Basis zu schaffen, um gezielte präventive Massnahmen einzuleiten
3. einen Einblick in die wirtschaftliche, gesetzliche und ethische Bedeutung der Resistenzproblematik zu geben.
4. die Grundlagenforschung für die Entwicklung neuer Medikamente zu fördern.

In erster Linie galt es, die Lage in der Schweiz zu erfassen. Gleichzeitig sollte jedoch auch die internationale Zusammenarbeit, insbesondere der Datenaustausch mit der EU, angeregt werden. Eines der wichtigsten Resultate des 2007 abgeschlossenen NFP 49 stellt die Einführung des Überwachungssystems SEARCH (Sentinel Surveillance of Antibiotic Resistance in Switzerland) dar. In der Datenbank von SEARCH werden die Daten aus 22 mikrobiologischen Labors aus der ganzen Schweiz erfasst. Damit sind ungefähr 80 Prozent der Spitaltage und mindestens 30 Prozent der praktizierenden Ärztinnen und Ärzte abgedeckt. Erfasst werden sämtliche Bakterienarten, die von den Labors auf Resistenzen getestet werden. Ins Überwachungssystem fliessen auch Zahlen über Verkäufe und Konsum von Antibiotika ein. So lässt sich verfolgen, ob sich der Konsum bestimmter Antibiotika ändert und ob eventuelle Parallelen zur Entwicklung von Resistenzen festzustellen sind. Die Daten von SEARCH sind über eine Website öffentlich zugänglich (www.search.ifik.unibe.ch). Bei wichtigen Veränderungen in der Resistenzlage werden auch Empfehlungen von Experten für Infektionskrankheiten und Mikrobiologen veröffentlicht. Diese Informationen sollen Ärztinnen und Ärzten im ambulanten und stationären Bereich Sicherheit bei der Wahl von Antibiotikatherapien geben [29].

Geplant ist nun der Ausbau von SEARCH zu einem Nationalen Antibiotikaresistenzzentrum (NARC). Neben der Überwachung der Resistenzlage und des Antibiotikakonsums hat das NARC die Funktion einer nationalen Informations- und Beratungsplattform. Es soll ausserdem die

Zusammenarbeit mit der EU und anderen Ländern sicherstellen sowie die weiterführenden Forschungsaktivitäten zum Thema Antibiotikaresistenz unterstützen und koordinieren.

Im Dezember 2005 wurde an einer internationalen Konferenz in Birmingham (UK) über die Problematik der Antibiotika-Resistenzen diskutiert. FINCH et al. veröffentlichten die Resultate 2006 [5]. Die wichtigsten Beschlüsse wurden in sieben Punkten zusammengefasst:

1. Die Verbreitung resistenter Stämme in Spitälern wie in der Umgebung muss minimiert werden. Dazu soll die Hygiene verbessert und die Applikation von Antibiotika reduziert werden.
2. Bessere Technologie soll die Überwachung der Resistenzsituation verbessern und die Interaktion mit der Klinik ermöglichen.
3. Schnelle, sensitive und spezifische Diagnostik ist dringend nötig. Als Anreiz sollte eine entsprechende Entschädigung diskutiert werden.
4. Exaktere Studien zum Kosten-Nutzen-Verhältnis von Antibiotika-Gebrauch und Resistenzdiagnostik sind dringend erforderlich.
5. Impfungs-Technologien sind zwar vorhanden, aber zu wenig als präventive Massnahme genutzt.
6. Anreize sind erforderlich, um grosse Pharma-Unternehmen zur Zusammenarbeit mit kleineren Biotechnologie-Firmen zu ermutigen. Diese sind innovativer und haben das Potential neue Medikamente, Diagnostik-Methoden und Impfungen zu entwickeln.
7. Eine Anpassung der international geregelten Anforderungen für die Zulassung neuer Medikamente sollte in Erwägung gezogen werden. Dies könnte einen wesentlichen Einfluss auf die Zeit und die Kosten für entsprechende Forschungsprojekte haben.

4.2 Aktuelle Daten aus der Schweiz

Erst 1996 wurde die erste offizielle Studie zur Prävalenz nosokomialer Infektionen in Schweizer Humanspitälern durchgeführt. Während einer Woche wurden Patienten von vier Universitätsspitälern auf nosokomiale Infektionen (NIs) untersucht. Bei 156 von 1'349 untersuchten Patienten konnten 176 NIs nachgewiesen werden (11.6%). 30% der NIs wurden im chirurgischen Operationsfeld lokalisiert. 22% wurden bei Harnwegsinfektionen, 15% bei Infektionen des unteren Respirationstrakts und 13% bei Septikämien festgestellt. Die höchste Prävalenz ergab sich auf Intensivstationen (25%), gefolgt von den Abteilungen für Chirurgie (12%) und der Inneren Medizin (9%). Unter den nachgewiesenen Erregern (65%) waren am häufigsten *Enterobacteriaceae* (28%), gefolgt von *Staphylococcus aureus* (13%), *Pseudomonas aeruginosa* (11%) und *Candida species* (10%) vertreten. Ausserdem konnte nachgewiesen werden, dass zentrale Venenkatheter ein besonderes Risiko darstellen. In einem Spital wurde ein Unterschied der Mortalität von Patienten mit NIs (9.2%) und Patienten ohne NIs (3.9%) festgestellt [30, 31]. Seit der Publikation dieser Studie im Jahr 1999 haben sich viele Spitäler zum „Swiss-NOSO surveillance network“ zusammengeschlossen. Es folgten weitere, analoge Studien 1999 und 2002, welche die Resultate von PITTET et al. [30] bestätigten [32]. Zusätzlich wurde jedoch darauf hingewiesen, dass die Prävalenz von NIs in einem Spital nicht repräsentativ sein kann für dessen Qualität, weil sie in hohem Mass von der Verteilung verschiedener Krankheiten an den jeweiligen Spitälern abhängt [33].

2008 erschien ein Artikel, welcher die Situation in einer geriatrischen Klinik schildert. Über zwei Jahre hinweg wurde das Personal auf das Problem der nosokomialen Infektionen aufmerksam

gemacht und die Dringlichkeit guter Hand-Hygiene verdeutlicht. Innerhalb der zwei Jahre konnte eine Verbesserung der Einhaltung hygienischer Massnahmen um 20% von 59% auf 79% erzielt werden. Dieses Resultat konnte anhand des entsprechend höheren Verbrauchs von Hände-Desinfektionsmitteln bestätigt werden. Die Rate nosokomialer Infektionen sank gleichzeitig von 11.7% auf 6.8% [34]. Diese Studie verdeutlicht, wie wichtig weitere aufklärende Massnahmen in betroffenen Institutionen sind.

4.3 Resistenzproblematik in der Tiermedizin

Die Überwachung der Resistenzsituation bei Tieren ist notwendig, weil einerseits resistente Keime über direkten Kontakt oder über Lebensmittel tierischer Herkunft vom Tier auf den Menschen übertragen werden können und andererseits therapieresistente bakterielle Infektionen zu bedeutenden wirtschaftlichen Einbussen führen können.

Seit 2002 wird deshalb am Bundesamt für Veterinärwesen (BVET) ein Monitoring-Programm für Antibiotikaresistenzen bei Nutztieren in der Schweiz durchgeführt [35, 36]. Seit Januar 2007 ist das BVET zusammen mit den Bundesämtern für Gesundheit und Landwirtschaft gemäss Tierseuchenverordnung (TSV, Art. 291d) sogar zur Überwachung der Antibiotikaresistenzen bei Tieren und Lebensmitteln tierischer Herkunft verpflichtet.

Tabelle 3: Auszug aus der Tierseuchenverordnung CH

Überwachung der Antibiotikaresistenzen

Art. 291d

- 1 Das Bundesamt erfasst in Zusammenarbeit mit den Bundesämtern für Gesundheit und für Landwirtschaft von Tieren und Lebensmitteln tierischer Herkunft Daten zur Antibiotikaresistenz von Zoonoseerregern sowie von anderen Erregern, sofern diese die öffentliche Gesundheit gefährden. Es führt zu diesem Zweck ein Überwachungsprogramm durch.
- 2 Die Überwachung der Antibiotikaresistenzen erfolgt im Rahmen der Überwachung der Zoonosen und Zoonoseerreger nach Artikel 291c.
- 3 Das Bundesamt erlässt nach Anhören der Bundesämter für Gesundheit und für Landwirtschaft Vorschriften technischer Art für die Überwachung der Antibiotikaresistenz von Zoonoseerregern und anderen Erregern.

Durchführung der Überwachung

Art. 291c

- 1 Die Überwachung erfolgt auf den folgenden Stufen der Lebensmittelkette:
 - a. Primärproduktion;
 - b. Lebensmittelproduktion;
 - c. Futtermittelproduktion.
 - 2 Die Überwachung erfolgt im Rahmen der Kontroll- und Überwachungsprogramme der Tierseuchen- und Lebensmittelgesetzgebung.
 - 3 Das Bundesamt erlässt nach Anhören der Bundesämter für Gesundheit und für Landwirtschaft Vorschriften technischer Art zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern.
-

2006 wurden zufällig ausgewählte Kotproben von 320 Poulets, 100 Mastschweinen und 100 Mastrindern auf *Campylobacter species*, *Escherichia coli* und *Enterococcus species* (spp.) untersucht. Als Leitsubstanz für die in der Humanmedizin zur Bekämpfung einer Campylobacteriose eingesetzten Antibiotika Erythromycin und Fluoroquinolone, verwendete die

Forschungsgruppe Ciprofloxacin. Dabei wurden aus Schweinen viel weniger gegen Ciprofloxacin sensible *Campylobacter* spp. (4 %) isoliert, als aus Rindern (43 %) und Hühnern (68 %). Dieses Phänomen wurde damit erklärt, dass bei Schweinen die resistenterere Spezies *C. coli* viel häufiger isoliert wurde als bei Rindern und Hühnern. Beim Menschen hingegen ist die bei Rindern und Hühnern häufiger nachgewiesene Spezies *C. jejuni* vor allem Ursache von Erkrankungen. Es konnte kein direkter Zusammenhang zwischen Vorkommen von Resistenzen und Einsatz des jeweiligen Antibiotikums bei der entsprechenden Tierart beobachtet werden. *E. coli* wurde als Indikatorkeim für gramnegative Darmbakterien getestet. Anders als bei den *Campylobacter* spp. war bei den Rindern der Anteil sensibler Keime (47 %) signifikant höher als bei Schweinen (20 %) und Hühnern (17 %). Auch multiple Resistenzen gegen mehr als vier getestete Antibiotika konnten bei Rindern seltener nachgewiesen werden als bei den anderen beiden Tierarten. Als Indikatorkeim für grampositive Darmbakterien wurden *Enterococcus* spp. untersucht. Sowohl bei Mastrindern (97.1 %), als auch bei Mastschweinen (97.3 %) und Masthühnern (99.4 %) war der Anteil resistenter Keime sehr hoch. Wie bei *Campylobacter* spp. variierten jedoch auch bei den *Enterococcus* spp. die jeweils isolierten Unterarten stark zwischen den Tierarten. Insgesamt waren Resistenzen gegen Vancomycin aber sehr selten anzutreffen (1 von 632). Resistenzen gegen weitere Antibiotika, die in der Humanmedizin zur Behandlung von Enterokokken-Infektionen eingesetzt werden, wie Ampicillin oder Gentamicin, waren ebenfalls selten [35].

Im Rahmen eines weiteren Projektes wurden 505 Käseproben auf *Enterococcus* spp. untersucht. Dabei waren deutlich mehr Resistenzen nachzuweisen als bei den aus Schlachtrindern isolierten Erregern. Es ist jedoch zu beachten, dass die Kontamination nicht zwingend von der Kuh oder aus dem Stall stammt, sondern viel eher Folge von Rekontaminationen bei der Herstellung, Lagerung oder dem Vertrieb ist [35].

In den USA wurde bei Tierärzten – insbesondere bei Nutztierpraktikern – signifikant häufiger MRSA isoliert als in der Durchschnittsbevölkerung [35].

In den Niederlanden wurden MRSA-Prävalenzen bei Schlachtschweinen von bis zu 40 % gefunden. Dieselben Stämme wurden in der Folge auch bei Personen mit häufigem Kontakt zu Schweinen wie Bauern, Tierärzten oder Schlachthofarbeitern nachgewiesen [35].

Eine entsprechende Studie wurde von NITZSCHE et al. (2007) an Schweizer Schlachtschweinen durchgeführt. Von den 142 isolierten *Staphylococcus aureus* Stämmen war keiner gegen Methicillin resistent [37]. In einer Studie des BVET in Zusammenarbeit mit dem Institut für Infektionskrankheiten der Universität Bern (IFIK) wurden bei 100 Schlachtschweinen aus verschiedenen Mastbetrieben Nasentupferproben genommen und auf Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* untersucht. Bei keinem der Schweine wurde MRSA nachgewiesen [35].

Abschliessend wurde festgestellt, dass sich die Resistenzlage in der Schweiz im internationalen Vergleich weiterhin positiv darstellt.

5 Definitionen

In der Folge werden einige zentrale Begriffe der Antibiotika-Empfindlichkeitsprüfung gesondert erläutert.

MHK	Die Minimale Hemmkonzentration beschreibt die tiefste Konzentration eines antimikrobiellen Wirkstoffes, der ein von Auge sichtbares Wachstum von Bakterien nach 18- bis 24-stündiger Inkubation in Bouillon (z.B. Bouillondilution) oder auf Agar (z.B. Agardiffusion) verhindert [38].
Breakpoint	Breakpoints werden diejenigen Konzentrationen genannt, welche die Bereiche „empfindlich“, „intermediär“ und „resistent“ voneinander trennen. Sie sind je nach antimikrobiellem Wirkstoff, Art des Erregers und Lokalisation im Patienten verschieden [38]. Mittels Breakpoint wird von der Situation <i>in vitro</i> auf die entsprechende Situation <i>in vivo</i> geschlossen.
Sensibel	Bakterienstämme, deren MHK im Konzentrationsbereich „sensibel“ liegen, sollten sich bei den normalerweise im Gewebe erreichten Wirkstoffspiegeln nicht mehr vermehren können [39]. Es wird erwartet, dass durch die Anwendung des betreffenden Wirkstoffes im Tier eine erfolgreiche Bekämpfung der bakteriellen Infektion erfolgt.
Intermediär	Bei Erreger-Wirkstoff-Kombinationen dieser Kategorie ist mit einer verminderten Wirksamkeit zu rechnen. Infektionen in Körperregionen, an welchen eine verstärkte Anreicherung des Antibiotikums zu erwarten ist, können eventuell dennoch erfolgreich bekämpft werden (z.B. Fluoroquinolone und β -Lactame im Harn). Bei einigen Wirkstoffen (z.B. β -Lactame) kann eine Dosiserhöhung innerhalb des therapeutischen Fensters manchmal dennoch zum gewünschten Erfolg führen [39]. Andere Arbeitsgruppen teilen solche Fälle in eine weitere Gruppe „moderately susceptible“ ein. Die Bezeichnung intermediär stellt dann lediglich eine Pufferzone dar, um das Auftreten falsch-sensibler und falsch-resistenter Resultate zu reduzieren [40].
Resistent	Gegenüber einem Wirkstoff resistente Bakterienstämme werden sich voraussichtlich trotz normalerweise erreichter Gewebekonzentrationen im Tier noch ungehemmt vermehren können. Von einer Anwendung in der Klinik muss deshalb dringend abgeraten werden. Unter Umständen kann diese Kategorie auch einen Hinweis auf spezifische Resistenzmechanismen (z.B. β -Lactamasen) geben [39].
Kreuzresistenz	Als kreuzresistent werden Bakterienarten bezeichnet, die gegen zwei oder mehr antimikrobielle Wirkstoffe mit gleichem oder ähnlichem Wirkungsmechanismus resistent sind. In der Folge kann von einer Resistenz gegen die eine Substanz auf eine Resistenz gegen die andere

Substanz geschlossen werden. Dies ermöglicht, nur eines der kreuzresistenten Antibiotika im Labor auf seine Wirksamkeit zu testen. Von allen anderen kreuzresistenten Wirkstoffen, kann dasselbe Resultat erwartet werden. Allerdings können Kreuzresistenzen nur schwierig nachgewiesen werden. Manchmal entwickeln gewisse Wirkstoffe zusätzliche Resistenzen, so dass kein Vergleich mit den ursprünglich kreuzresistenten Stoffen mehr möglich ist.

Leitsubstanz Leitsubstanzen werden stellvertretend für eine Gruppe von Substanzen mit gleichem Wirkungsmechanismus getestet. Aufgrund von Kreuzresistenzen, lässt das Testresultat der Leitsubstanz auf die Wirksamkeit der Substanzgruppe schließen. Durch die Wahl entsprechender Leitsubstanzen können Kosten und Aufwand für die Empfindlichkeitsprüfung vieler Antibiotika im Labor reduziert werden. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Resistenzentwicklung ein sehr dynamisches Geschehen ist, so dass die Leitsubstanzen immer wieder überprüft und angepasst werden müssen.

6 Methoden der Empfindlichkeitstestung bakterieller Erreger gegenüber Antibiotika

Allen Testmethoden ist der erste Schritt gemeinsam: die Herstellung des geeigneten Inokulums. Dies kann entweder über die direkte oder die indirekte Keimsuspension erfolgen.

a) Direkte Keimsuspension

Wenige Kolonien einer 18 bis 24 Stunden alten reinen Kultur werden in einem geeigneten Suspensionsmedium gelöst. Mittels Photometrie wird die Optische Dichte bei 600nm (OD_{600}) bestimmt. Je nach Bedarf wird Suspensionsmedium oder Kolonie zugesetzt, bis die OD_{600} derjenigen eines McFarland-Standards 0,5 entspricht. Es ist die einfachere Methode und eignet sich für die meisten Organismen. Insbesondere empfohlen wird sie für anspruchsvolle Organismen, wie *Haemophilus species*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Streptococcus species* sowie *Staphylococcus species*, wenn sie gegen Methicillin oder Oxacillin getestet werden [41].

b) Indirekte Keimsuspension

Für schlecht wachsende Organismen und Bakterien, deren Kolonien sich schlecht in Lösung bringen lassen, ist die indirekte Keimsuspension Methode der Wahl. Sie kann auch gewählt werden, wenn frische Kulturen, wie sie für die direkte Keimsuspension benötigt werden, nicht vorhanden sind. Ausgenommen davon sind *Staphylococcus species*, die in jedem Fall aus höchstens 24h alten Kolonien direkt angesetzt werden sollten. Für die indirekte Keimsuspension werden die Bakterien in einer geeigneten Bouillon (meist Müller-Hinton Bouillon) angezüchtet. In der Regel erreicht die Suspension den gewünschten OD_{600} -Wert nach Inkubation während 2-6h bei 35°C [41].

Da die Dichte des Inokulums, bzw. die CFU pro Volumen Flüssigmedium, einen wesentlichen Einfluss auf die Wachstumseigenschaften haben kann, muss diese jedes Mal genau eingestellt

werden. Laut Literatur entspricht der McFarland-Standard 0.5 einer Konzentration von $1-2 \times 10^8$ CFU/ml für den *E. coli* Referenzstamm ATCC 25922.

Bei den nachfolgend beschriebenen Testverfahren unterscheiden sich die Inokula lediglich in Menge, weiterer Verdünnung und Applikation.

6.1 Agardiffusion

6.1.1 Methode nach Kirby-Bauer (Plättchentest)

Lange Zeit war die Agardiffusion nach Kirby-Bauer massgebend (Abbildung 1) [42]. Sie findet nach wie vor grosse Verbreitung, weil es bisher das bestuntersuchte Testverfahren ist. Es sind entsprechende Daten für die Auswertung, auch von tierpathogenen Bakterien, vorhanden. Viele Firmen bieten ein breites Sortiment an Testmaterial an. Deshalb wurde diese Methode als Vergleichstest für die vorliegende Studie gewählt. Die mit dem zu testenden Bakterienstamm imprägnierte Agarplatte wird mit Antibiotika-haltigen Fliesspapierplättchen bestückt. Nach der Inkubation in einem Brutschrank können am folgenden Tag die Hemmhofdurchmesser abgelesen werden. Anhand von Antibiotikum-, Bakterienspezies-, und probespezifischen Werten, kann der Keim als sensibel, intermediär oder resistent eingestuft werden.



Abbildung 1: *Pseudomonas aeruginosa* getestet auf die Empfindlichkeit gegenüber Erythromycin, Gentamicin, Clindamycin, Amikacin, Tetrazyklin und Neomycin

Der Hemmhofdurchmesser repräsentiert dabei die MHK. Je grösser er ist, desto empfindlicher verhält sich der getestete Stamm gegenüber den getesteten antimikrobiellen Wirkstoffen.

6.1.2 Epsilon-Meter-Test (E-Test oder Streifentest)

Das Grundprinzip des E-Tests entspricht demjenigen der Agardiffusion nach Bauer-Kirby. Das Antibiotikum wird jedoch in einem logarithmischen Konzentrationsgradienten auf einen Plastikstreifen aufgetragen. Je grösser die Konzentration im Verlauf des Streifens, desto grösser der Hemmhof. Dieser nimmt somit eine ellipsoide Form an, welche dem Test den Namen gegeben hat. Im Gegensatz zum Plättchentest ermöglicht der Streifentest die direkte Bestimmung der minimalen Hemmkonzentration des jeweiligen Antibiotikums. Sie kann an gekennzeichneten Stellen des Streifens abgelesen werden [15, 43-46]. Allerdings können pro Platte maximal 2 Antibiotika getestet werden, was zu hohem materiellem Aufwand führt. Auch die Kosten liegen beim E-Test einiges höher als beim Plättchentest nach Kirby-Bauer.



Abbildung 2: E-Test von Dr. med. T. Pietzker, Ulm

Die MHK kann an gekennzeichneten Stellen des Streifens abgelesen werden.

6.2 Bouillondilution

In den vergangenen Jahren hat die direkte Messung der Minimalen Hemmkonzentration (MHK) mittels Bouillondilution immer grössere Verbreitung gefunden. Sie wird international als Goldstandard verwendet. Die Bestrebungen immer mehr Daten zu sammeln und so vorhandene Referenzwerte zu korrigieren und neue zu evaluieren sind gross. Dabei wird besonderes Augenmerk auf die MHK-Messung mittels Mikrodilution gelegt. Schon 1970 veröffentlichten GAVAN et al. eine Studie, welche die Mikrodilution als Methode für die Empfindlichkeitsprüfung gegen Antibiotika und Chemotherapeutika evaluiert [47].

6.2.1 Makro- versus Mikrodilution

Eine Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen kann mittels Makro- oder Mikrodilution erfolgen. Die zwei Verfahren unterscheiden sich lediglich in den verwendeten Volumina. Während für die Makrodilution je 1ml Inokulum und Antibiotikumlösung inkubiert werden, liegen die Volumina für die Mikrodilution im Bereich von 50-100µl. Für die Mikrodilution können deshalb anstelle von Reagenzgläsern 96 Loch-Platten verwendet werden, was ein automatisiertes Ablesen mit anschliessender Auswertung ermöglicht. Das Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) hat für beide Verfahren entsprechende Standards herausgegeben [41].

6.2.2 MHK-Studie

Eine MHK-Studie untersucht eine grosse Reihe an Verdünnungsstufen, um für möglichst alle zu testenden Isolate eine minimale Hemmkonzentration ermitteln zu können. Ein Beispiel für ein entsprechendes Platten-Layout ist in Abbildung 3 dargestellt. Von der Spalte 1 bis 11 wird die Konzentration des antimikrobiellen Wirkstoffes jeweils verdoppelt. Die Spalte 12 enthält kein Antibiotikum, um das Wachstum des Inokulums zu überprüfen. Entweder wird nun auf der ganzen Platte dasselbe Antibiotikum gegenüber verschiedenen Stämmen oder derselbe Stamm gegenüber verschiedenen Antibiotika getestet.

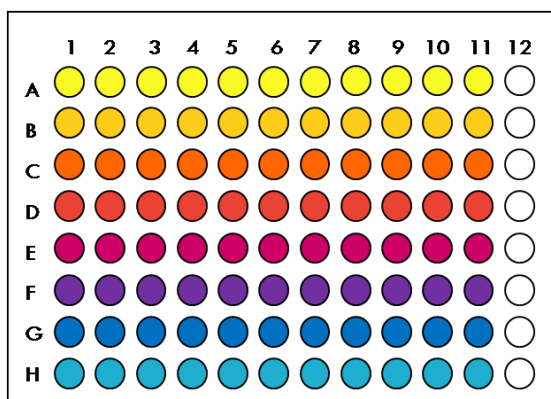


Abbildung 3:

96-Lochplatte für die Ermittlung der MHK

6.2.3 Breakpoint-Studie

Für eine Breakpoint-Studie wird pro antimikrobiellem Wirkstoff nur eine Breakpoint-Konzentration getestet. Ist nach der Inkubation eine Trübung festzustellen, ist der Erreger trotz Antibiotikum gewachsen und wird deshalb als resistent bezeichnet. Bleibt die angesetzte Suspension klar, konnte sich der Erreger nicht vermehren. Er ist gegenüber dem Wirkstoff

sensibel. Wie bei der MHK-Studie wird jedes Mal eine Wachstumskontrolle (Positiv-Kontrolle in der ersten Spalte) mitgeführt, um falsch-sensible Resultate zu vermeiden. Zusätzlich wird in der letzten Spalte als Negativ-Kontrolle steriles Suspensionsmedium inokuliert. Die Erhebung der Resultate kann vollautomatisch mittels photometrischer Extinktionsmessung erfolgen. Das Layout eines kommerziell erhältlichen Breakpoint-Tests ist in Abbildung 4 dargestellt.

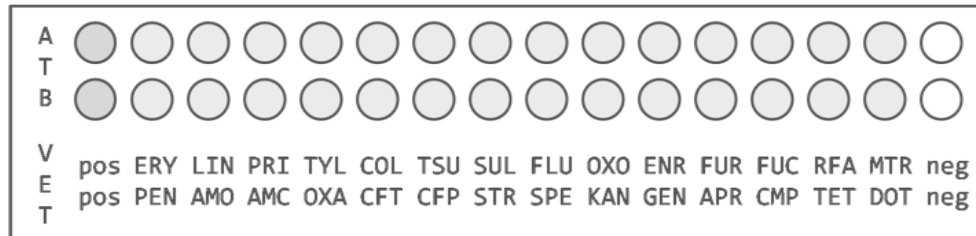


Abbildung 4:
ATB VET von
Biomérieux

		mg/l			mg/l			mg/l
pos	Positiv-Kontrolle	-	COL	Colistin	4	ENR	Enrofloxacin	0.5
PEN	Penicillin	0.25	CFP	Cefoperazon	4	APR	Apramycin	16
ERY	Erythromycin	1	TSU	Cotrimoxazol	2/38	FUR	Nitrofurantoin	25
AMO	Amoxicillin	4	STR	Streptomycin	8	CMP	Chloramphenicol	8
LIN	Lincomycin	2	SUL	Sulfamethizol	100	FUC	Fusidinsäure	2
AMC	Amoxicillin - Clavulansäure	4/2	SPE	Spectinomycin	64	TET	Tetracyclin	4
PRI	Pristinamycin	2	FLU	Flumequin	4	RFA	Rifampicin	4
OXA	Oxacillin	2	KAN	Kanamycin	8	DOT	Doxycyclin	4
TYL	Tylosin	2	OXO	Oxolinsäure	64	MTR	Metronidazol	4
CFT	Cephalotin	8	GEN	Gentamicin	4	neg	Negativ-Kontrolle	-

Im Gegensatz zur MHK-Studie gibt es bei diesem Verfahren keine „intermediäre“ Kategorie. Es fehlt eine Pufferzone. Dem unterschiedlichen Wachstumsverhalten der Bakterien und den Spezies-spezifischen Breakpoints kann durch Anpassung der Menge an Inokulum nur bedingt Rechnung getragen werden.

6.2.4 Kompromisse zwischen MHK- und Breakpoint-Studien

Neben den oben vorgestellten Möglichkeiten der Empfindlichkeitsprüfung von tierpathogenen Bakterien gegen Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro*, gibt es eine Vielzahl von voll- und halbautomatischen Variationen. Meistens werden nur eine geringe Anzahl an ausgesuchten Verdünnungsstufen getestet, um die Empfindlichkeit der Erreger gegenüber den einzelnen antimikrobiellen Wirkstoffen möglichst gut zu erfassen, ohne einen kompletten MHK-Test durchführen zu müssen.

Gut untersucht sind das Micro-Media System [40, 48, 49], das Vitek AutoMicrobic System [49-55], der Sensititer Autoreader [55-58], das Sceptor System [40, 49, 59], das MS-2 System [49, 53, 60] und der MicroScan [61]. Meistens wurden die neuen Systeme mit der Agardiffusion oder der Bouillondilution verglichen. Gewisse Autoren haben die verschiedenen Methoden aber auch parallel durchgeführt und evaluiert [40, 49, 53, 55]. Auch internationale Ringversuche wurden durchgeführt, wobei die teilnehmenden Labors z.T. unterschiedliche Methoden für die MHK-Bestimmung anwendeten [62].

Material und Methoden

1 Dokumente

Für die vorliegende Studie wurden die Richtlinien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) befolgt. Dies ermöglicht den direkten Vergleich mit Resultaten anderer Studien.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)

- *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement*
CLSI document **M100-S17**, Vol. 27 No.1, ISBN 1-56238-625-5
Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2007)
- *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard – Second Edition*
CLSI document **M31-A3**, Vol. 28 No. 8, ISBN 1-56238-659-X
Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2002)
- *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Ninth Edition*
CLSI document **M2-A9**, Vol. 26 No. 1, ISBN 1-56238-586-0
Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2006)
- *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – Seventh Edition*
CLSI document **M7-A7**, Vol. 26 No. 2, ISBN 1-56238-587-9
Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA (2006)

2 Stammsammlung

2.1 Herkunft

Vom 22.8.2006 bis zum 31.12.2007 wurden in der Diagnostik des Instituts für Veterinärbakteriologie in Zürich (IVB ZH) über 700 Bakterienisolate gesammelt und bei -80°C konserviert.

Besonderes Augenmerk wurde auf *Pseudomonas aeruginosa* gerichtet, der an der Klinik der Vetsuisse-Fakultät Zürich als nosokomialer Erreger grosse Probleme bereitet. Einen weiteren Schwerpunkt bilden Isolate aus der Pferdeklunik des Tierspitals Zürich. Auch zahlreiche *Escherichia coli*, die aus Harnproben von Hund und Katze isoliert werden konnten, wurden in die Untersuchungen mit einbezogen. Der allgemeinen Verbreitung wegen bilden *Staphylococcus* species, *Streptococcus* species, *Arcanobacterium pyogenes* und *Corynebacterium*

pseudotuberculosis als wichtige Vertreter der Eitererreger die vierte Gruppe der Studie. Zur besseren Übersicht wurden die gesammelten Stämme in der Folge in grampositive und gramnegative Bakterien eingeteilt und nach Spezies sortiert. Tabelle 4 gibt einen Überblick über die getesteten Isolate und deren Herkunft.

Tabelle 4: Übersicht über die getesteten Isolate

grampositive Bakterienisolate

<i>Staphylococcus aureus</i>			
Nr. ¹	Tierart ²	Probenmaterial ³	ID-Methode ⁴
1	Hund	Abszess	Sequenzierung
2			Sequenzierung
3		Gelenkpunktat	Sequenzierung
4			Sequenzierung
5		Hautbiopsie	API Staph, CF+PK
6		Ohrtupfer	API Staph, CF+PK
7			API Staph, CF+PK
8		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
9	Katze	Ohrtupfer	Sequenzierung
10		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
11		Tracheobronchialsekret	Sequenzierung
12			Sequenzierung
13	Pferd	Abszess	Sequenzierung
14			API Staph, CF+PK
15			API Staph, CF+PK
16			API Staph, CF+PK
17		Harn	Sequenzierung
18		Hautbiopsie	Sequenzierung
19		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
20		Punktat	API Staph, CF+PK
21		Tracheobronchialsekret	API Staph, CF+PK
22			API Staph, CF+PK
23			API Staph, CF+PK
24			API Staph, CF+PK
25	Schaf	Wundmaterial	API Staph, CF+PK
26	Schaf	Abszess	Sequenzierung
27	Ziege	Eiter	Sequenzierung
28	Schwein	Sonstiges	API Staph, CF+PK

<i>Staphylococcus (pseud)intermedius</i>			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
28	Hund	Abszess	Sequenzierung
29		Augentupfer	Sequenzierung
30		Galle	CF+PK
31			Sequenzierung
32		Gelenkpunktat	Sequenzierung
33			Sequenzierung
34			Sequenzierung
35			Sequenzierung
36		Harn	Sequenzierung
37			Sequenzierung
38			Sequenzierung
39			Sequenzierung
40			API Staph

41	Hund	Hautbiopsie	CF+PK
42		Ohrtupfer	Sequenzierung
43			Sequenzierung
44			Sequenzierung
45			Sequenzierung
46		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
47			Sequenzierung
48			Sequenzierung
49		Pilzkultur	Sequenzierung
50		Punktat	Sequenzierung
51			Sequenzierung
52		Tracheobronchialsekret	CF+PK
53		Wundmaterial	Sequenzierung
54		Wundtupfer	Sequenzierung
55			Sequenzierung
56			Sequenzierung
57			Sequenzierung
58			Sequenzierung
59			Sequenzierung
60		Sonstiges	Sequenzierung
61			Sequenzierung
62	Katze	Harn	Sequenzierung
63	Rind	Tracheobronchialsekret	API Staph, CF+PK
64	Schaf	Wundtupfer	Sequenzierung

Staphylococcus species, Koagulase-negativ				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art ⁵	ID-Methode
65	Hund	Tracheobronchialsekret	Staphylococcus chromogenes	Sequenzierung
66	Pferd	Wundtupfer		API Staph
67	Katze	Ohrtupfer	Staphylococcus cohnii	Sequenzierung
68	Rind	Abszess		Sequenzierung
69	Hund	Abszess	Staphylococcus epidermidis	API Staph
70		Leberbiopsie		Sequenzierung
71		Ohrtupfer		Sequenzierung
72		Harn		Sequenzierung
73	Katze	Gelenkpunktat		API Staph
74		Harn		Sequenzierung
75	Pferd	Abszess		API Staph
76				API Staph
77				Sequenzierung
78				API Staph
79	Ratte	Niere		API Staph
80				Sequenzierung
81	Schaf	Gelenkpunktat		Sequenzierung
82	Katze	Harn	Staphylococcus felis	Sequenzierung
83				Sequenzierung
84		Nasentupfer		Sequenzierung
85				Sequenzierung
86		Ohrtupfer		Sequenzierung
87				Sequenzierung
88				Sequenzierung

89	Hund	Leberbiopsie	Staphylococcus haemolyticus	Sequenzierung
90	Katze	Harn		Sequenzierung
91				Sequenzierung
92	Pferd	Hornhautabstrich		API Staph
93	Rind	Milchprobe		Sequenzierung
94	Schwein	Hirn		Sequenzierung
95				Sequenzierung
96	Katze	Harn	Staphylococcus hominis	Sequenzierung
97	Huhn	Augenlid	Staphylococcus hyicus	API Staph
98	Pferd	Hautgeschabsel		API Staph
99				API Staph
100	Schwein	Hirn, Lunge, Leber, Milz		Sequenzierung
101				Sequenzierung
102				Sequenzierung
103				Sequenzierung
104	Huhn	Sinus	Staphylococcus lentus	API Staph
105	Katze	Ohrtupfer	Staphylococcus lugdunensis	API Staph
106	Hund	Abszess	Staphylococcus pasteurii	Sequenzierung
107	Katze	Leberbiopsie		Sequenzierung
108	Hund	OP-Kontrolltupfer	Staphylococcus pettenkoferi	Sequenzierung
109	Pferd	Tracheobronchialsekret	Staphylococcus saprophyticus	API Staph
110	Esel	Liquor	Staphylococcus sciuri	Sequenzierung
111	Hund	Ohrtupfer		API Staph
112		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
113	Pferd			API Staph
114	API Staph			
115	Rind			API Staph
116	Schaf	Wundtupfer		Sequenzierung
117	Katze	Nasentupfer	Staphylococcus succinus	Sequenzierung
118	Pferd	Abszess		API Staph
119	Pferd	Tracheobronchialsekret	Staphylococcus warneri	API Staph
120	Hund	Harn	Staphylococcus xylosus	API Staph
121		Hautbiopsie		API Staph
122	Katze	Nasentupfer		Sequenzierung
123	Pferd	Abszess		API Staph
124		Luftsackspülung		API Staph
125		Ohrtupfer		API Staph
126		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
127	API Staph			
128	Rind			Sequenzierung
129				API Staph

Streptococcus species, β -Hämolyse				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
130	Hund	Ohrtupfer	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp. <i>equisimilis</i>	Sequenzierung
131	Pferd	Harn		API Strep
132	Schwein	Hirn, Lunge, Leber, Milz, Vordergliedmasse	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> ssp.	Sequenzierung
133				Sequenzierung
134	Pferd	Lymphknotenpunktat	<i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>equi</i>	gram, Lf C, Zucker
135		Abszess		gram, Lf C, Zucker
136	Esel	Tracheobronchialsekret	<i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>ruminatorum</i>	Sequenzierung
137	Hund	Harn	<i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i>	API Strep
138		OP-Kontrolltupfer		Sequenzierung
139		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
140	Pferd	Abszess		gram, Lf C, Zucker
141		Hautbiopsie		gram, Lf C, Zucker

142	Pferd	Luftsackspülung	<i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>zooepidemicus</i>	API Strep
143				Sequenzierung
144				Sequenzierung
145		Tracheobronchialsekret		API Strep
146				API Strep
147				API Strep
148		Harn		API Strep
149		Uterustupfer		API Strep
150		Zahnalveole		API Strep
151		Sonstiges		API Strep

Streptococcus species, α-Hämolys				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
152	Pferd	Tracheobronchialsekret	Streptococcus acidominimus	Lf -, AESC +, API Strep
153	Schwein	Hirn		API Strep
154	Pferd	Abszess	Streptococcus bovis	Lf -, AESC +, API Strep
155				API Strep
156				API Strep
157				API Strep
158	Rind	Leber, Lunge		API Strep
159		Tracheobronchialsekret		API Strep
160	Zwergflusspferd	Herzblut		Sequenzierung
161				API Strep
162	Hund	Abszess	Streptococcus canis	Sequenzierung
163		Bauchhöhlenpunktat		Sequenzierung
164		Harn		Sequenzierung
165		Prostatasekret		Sequenzierung
166	Katze	Harn		Sequenzierung
167		Ohrtupfer		Sequenzierung
168	Schaf	Lunge	Streptococcus entericus	Sequenzierung
169	Pferd	Abszess	Streptococcus equinus	API Strep
170	Katze	Harn	Streptococcus lutetiensis	Sequenzierung
171				Sequenzierung
172	Pferd	Tracheobronchialsekret	Streptococcus plutanimalium	Sequenzierung
173	Schwein	Hirn		Sequenzierung
174				Sequenzierung
175	Hund	Harn	Streptococcus suis	Sequenzierung
176	Ratte	Sonstiges		Sequenzierung
177	Schwein	Hirn, Lunge, Leber, Milz		Sequenzierung
178				Sequenzierung
179				Sequenzierung
180				Sequenzierung
181		Lunge, Leber, Milz, Vordergliedmasse		API Strep
182				Sequenzierung
183				Sequenzierung
184				Sequenzierung
185	Mitralklappe	Sequenzierung		
186	Rind	Tracheobronchialsekret	Streptococcus uberis	Sequenzierung

<i>Aerococcus viridans</i>			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
187	Huhn	Sonstiges	Sequenzierung
188	Pferd	Bauchhöhlenpunktat	Lf -, AESC +, API Strep
189		Nachgeburt	API Strep
190		Tracheobronchialsekret	API Strep
191	Schwein	Hirn	Sequenzierung

192	Schwein	Hirn	Sequenzierung
193			Sequenzierung
194			Sequenzierung
195			Sequenzierung
196		Pleura	API Strep
197		Vordergliedmasse	Sequenzierung
198			API Strep
199			Sequenzierung
200			Sequenzierung
201			Sequenzierung

Enterococcus species					
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode	
202	Hund	Analdrüsensekret	Enterococcus casseliflavus	Sequenzierung	
203	Katze	Ohrtpuffer		Sequenzierung	
204	Pferd	Leberbiopsie	Enterococcus durans	Sequenzierung	
205	Hund	Harn	Enterococcus faecalis	API Strep	
206				API Strep	
207				API Strep	
208	Kaninchen	Konjunktivaltupfer		API Strep	
209	Katze	Harn		API Strep	
210				Sequenzierung	
211				API Strep	
212				Sequenzierung	
213	Pferd	Abszess		Sequenzierung	
214		Harn		Sequenzierung	
215	Rind	Wundmaterial		Sequenzierung	
216	Hund	Analdrüsensekret		Enterococcus faecium	Sequenzierung
217		Tracheobronchialsekret			Sequenzierung
218	Katze	Harn			Sequenzierung
219					AESC +
220			Sequenzierung		
221	Nashorn	Liquor	API Strep		
222			API Strep		
223	Pferd	Abszess	Lf D, AESC +++, API		
224		Leberbiopsie	API Strep		
225		Tracheobronchialsekret	API Strep		
226	Schwein	Hirn	Sequenzierung		
227			Sequenzierung		
228			Sequenzierung		
229		Hirn, Lunge, Leber, Milz, Vordergliedmasse	Sequenzierung		
230			Sequenzierung		
231	keine Angabe	Harn	Enterococcus hirae	Sequenzierung	

Gemella palaticanis			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
232	Hund	Harn	Sequenzierung

Vagococcus fluvialis			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
233	Schwein	Vordergliedmasse	Sequenzierung

Leuconostoc species			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
234	Pferd	Tracheobronchialsekret	API Strep

Bacillus species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
235	Pferd	Abszess	Bacillus pumilus	Sequenzierung
236		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
237				Sequenzierung
238	Katze	Harn	Bacillus subtilis	Sequenzierung
239	Kleintier			Sequenzierung
240	Pferd	Tracheobronchialsekret	Bacillus sp.	gram, Kat, Ox, Rakett

<i>Actinomyces</i> species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
241	Hund	Bauchhöhlenpunktat	<i>Actinomyces bowdenii</i>	Sequenzierung
242	Pferd	Eiter	<i>Actinomyces denticolens</i>	Sequenzierung
243	Pferd	Abszess	<i>Actinomyces</i> sp.	Sequenzierung
244	Alpaka	Zahnalveole		Sequenzierung

Arcanobacterium species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
245	Rind	Abszess	Arcanobacterium pyogenes	Sequenzierung
246		Lunge		Sequenzierung
247				Sequenzierung
248		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
249				Sequenzierung
250				Sequenzierung
251	Schaf	Wundtupfer		Sequenzierung
252	Schwein	Abszess		Sequenzierung
253				Sequenzierung
254				Sequenzierung
255				Sequenzierung

Corynebacterium species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
256	Hund	Ohrtupfer	Corynebacterium auriscarnis	Sequenzierung
257	Rind	Milchprobe	Corynebacterium casei	Sequenzierung
258	Schaf	Abszess	Corynebacterium pseudotuberculosis	Sequenzierung
259				Sequenzierung
260				Sequenzierung
261				Sequenzierung
262		Lunge		Sequenzierung
263	Ziege	Abszess		Sequenzierung
264				Sequenzierung
265		Abszess		Sequenzierung
266				Sequenzierung
267				Sequenzierung
268	Hund	Ohrtupfer	Corynebacterium sp.	Sequenzierung
269	Tapir			Sequenzierung
270				Sequenzierung
271	Rind	Lymphknotenpunktat	Corynebacterium vitarumen	Sequenzierung

<i>Rhodococcus</i> species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
272	Pferd	keine Angabe	<i>Rhodococcus equi</i>	Sequenzierung
273		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung

gramnegative Bakterienisolate

Escherichia coli, ohne Hämolyse

Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
272	Hund		Sequenzierung
273			Sequenzierung
274			Sequenzierung
275			Sequenzierung
276			Sequenzierung
277			Sequenzierung
278			Sequenzierung
279			Sequenzierung
280			Sequenzierung
281			Sequenzierung
282			Sequenzierung
283			Sequenzierung
284			Sequenzierung
285			Sequenzierung
286			Sequenzierung
287			Sequenzierung
288			Sequenzierung
289			makroskopisch
290	Katze	Harn	Enterotube
291			Sequenzierung
292			Sequenzierung
293			Sequenzierung
294			Sequenzierung
295			Sequenzierung
296			Sequenzierung
297			Sequenzierung
298			Sequenzierung
299			Sequenzierung
300			Sequenzierung
301			Sequenzierung
302			Sequenzierung
303			Enterotube
304			Enterotube
305			Enterotube
306			Enterotube
307			Enterotube
308			Enterotube
309	Pferd	Abszess	Sequenzierung
310			Sequenzierung
311			Enterotube
312			Sequenzierung
313			Enterotube
314			Enterotube
315			Enterotube
316		Blutkultur	Sequenzierung
317		Harn	Enterotube
318			Sequenzierung
319		Hautbiopsie	Sequenzierung
320		Kot	Sequenzierung
321		Lunge	Enterotube
322		Tracheobronchialsekret	Sequenzierung
323			Sequenzierung

324	Pferd	Tracheobronchialsekret	Enterotube
325			Enterotube
326			Enterotube
327		Uterustupfer	Enterotube
328			Enterotube
329			Enterotube
330		Wundmaterial	Enterotube
331	Rind	Harn	Sequenzierung
332	Schaf	Niere, Leber, Lunge	Sequenzierung
333	Schwein	Niere	Sequenzierung
334			Sequenzierung
335			Sequenzierung

Escherichia coli, mit Hämolyse			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
336	Hund	Harn	Sequenzierung
337			Sequenzierung
338			Sequenzierung
339			Sequenzierung
340			Sequenzierung
341			Sequenzierung
342			Sequenzierung
343			Sequenzierung
344			Sequenzierung
345			Sequenzierung
346			Sequenzierung
347			Sequenzierung
348			Sequenzierung
349			Sequenzierung
350			Sequenzierung
351			Sequenzierung
352			Sequenzierung
353			Sequenzierung
354			Enterotube
355			Sequenzierung
356			Sequenzierung
357			Sequenzierung
358	makroskopisch		
359	Katze		Enterotube
360			Sequenzierung
361			Sequenzierung
362			Sequenzierung
363			Sequenzierung
364			Sequenzierung
365			Sequenzierung
366			Sequenzierung
367			Sequenzierung
368			Sequenzierung
369			Sequenzierung
370			Sequenzierung
371			Enterotube
372			Enterotube
373			Sequenzierung
374			Sequenzierung
375			Enterotube
376			Enterotube

377	Pferd	Uterustupfer	Enterotube
378	Schwein	Niere	Enterotube

Acinetobacter species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
379	Pferd	Abszess	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Sequenzierung
380		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
381	Schwein	Niere	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Enterotube
382	Katze	Harn	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Sequenzierung
383	Pferd	Tracheobronchialsekret	<i>Acinetobacter sp.</i>	gram, Kat., Ox.

Citrobacter species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
384	Pferd	Tracheobronchialsekret	<i>Citrobacter freundii</i>	Sequenzierung

Enterobacter species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
385	Hund	Harn	Enterobacter cloacae	Enterotube
386	Pferd	Kot		Sequenzierung
387				Enterotube
388		Tracheobronchialsekret		Enterotube
389				Enterotube
390	Hund	Harn	Enterobacter hormaechei	Sequenzierung
391	Katze			Sequenzierung
392	Pferd	Abort	Enterobacter sp.	Sequenzierung
393		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
394				Enterotube

Klebsiella species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
395	Hund	Harn	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Enterotube
396	Pferd	Bauchhöhlenpunktat		Enterotube
397		Tracheobronchialsekret		Enterotube
398	Kleintier	Harn	<i>Klebsiella pulmoniae</i>	Sequenzierung

Pantoea species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
399	Pferd	Nasentupfer	Pantoea agglomerans	Sequenzierung
400		Tracheobronchialsekret		Enterotube
401				Enterotube
402				Enterotube
403		Wundtupfer		Enterotube
404		Sonstiges		Enterotube

Proteus species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
405	Hund	Harn	<i>Proteus mirabilis</i>	Sequenzierung
406	Katze			Sequenzierung
407	Pferd	Kot		Sequenzierung
408		Lymphknotenpunktat		Sequenzierung

Salmonella species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
409	Pferd	Kot	Salmonella Typhimurium	Sequenzierung
410				Sequenzierung
411				Sequenzierung

Serratia species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
412	Pferd	Ohrtupfer	Serratia liquefaciens	Enterotube
413		Uterustupfer		Enterotube
414		Sonstiges		Enterotube
415		Tracheobronchialsekret	Serratia plymuthica	Enterotube

Shigella species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
416	Hund	Harn	Shigella dysenteriae	Sequenzierung
417	Pferd	Tracheobronchialsekret	Shigella flexneri	Sequenzierung
418		Ohrtupfer	Shigella sonnei	Sequenzierung
419				Sequenzierung
420		Tracheobronchialsekret	Shigella sp.	Sequenzierung

Actinobacillus species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
421	Pferd	Punktat	Actinobacillus equuli	Sequenzierung
422		Tracheobronchialsekret		Sequenzierung
423				Sequenzierung
424				Sequenzierung
425				Sequenzierung
426			Actinobacillus rossii	Sequenzierung

Pasteurella species				
Nr.	Tierart	Probenmaterial	Gattung und Art	ID-Methode
427	Hund	Harn	Pasteurella multocida	Sequenzierung
428			Pasteurella trehalosi	Sequenzierung
429	Pferd	Luftsackspülung	Pasteurella pneumotopica	Sequenzierung

Pseudomonas aeruginosa			
Nr.	Tierart	Probenmaterial	ID-Methode
430	Hund	Abszess	Sequenzierung
431			API 20 NE
432			makroskopisch
433		Augentupfer	Sequenzierung
434		Gelenkpunktat	Sequenzierung
435			makroskopisch
436		Harnsteine	API 20 NE
437		Leberbiopsie	API 20 NE
438		Ohrtupfer	Sequenzierung
439			Sequenzierung
440			Sequenzierung
441			Sequenzierung
442			Sequenzierung
443			Sequenzierung
444			Sequenzierung
445			API 20 NE

446	Hund	Ohrtupfer	Sequenzierung
447			Sequenzierung
448			makroskopisch
449		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
450			Sequenzierung
451			Sequenzierung
452			API 20 NE
453			makroskopisch
454			makroskopisch
455			makroskopisch
456		Punktat	Sequenzierung
457		Tracheobronchialsekret	Sequenzierung
458		Wundmaterial	makroskopisch
459	Katze	Gallenpunktat	Sequenzierung
460		Harn	makroskopisch
461			makroskopisch
462			makroskopisch
463		Ohrtupfer	Sequenzierung
464		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
465			Sequenzierung
466		Tracheobronchialsekret	Sequenzierung
467			API 20 NE
468		keine Angabe	API 20 NE
469	Kleintier	Ohrtupfer	Sequenzierung
470	Pferd	Harn	makroskopisch
471		Hautbiopsie	Sequenzierung
472		OP-Kontrolltupfer	Sequenzierung
473		Tracheobronchialsekret	API 20 NE
474	Sequenzierung		
475	Rind		API 20 NE
476			Sequenzierung
477	Schaf	Lunge	Sequenzierung
478	Beutelfrosch	ganzer Frosch	Sequenzierung
479	Meerschweinchen	Tracheobronchialsekret	API 20 NE
480	Schlange	Tracheatupfer	API 20 NE
481		Wundtupfer	Sequenzierung

- ¹ Damit die Isolate ihren entsprechenden Resultaten der Empfindlichkeitstestung zugeordnet werden können, sind sie fortlaufend nummeriert.
- ^{2, 3} Um später eventuelle tierart- oder probenspezifische Phänomene auszumachen, wurden diese Daten wenn immer möglich festgehalten.
- ⁴ In der letzten Spalte wird auf das jeweilige Testverfahren hingewiesen, welches zur Identifizierung des Erregers geführt hat. In Kapitel 3 wird auf die einzelnen Methoden eingegangen.
- ⁵ Bakterien gleicher Spezies aber unterschiedlicher Subspezies können sehr verschiedene Resistenzmuster aufweisen. Deshalb wurde auf eine möglichst genaue Identifizierung der Isolate Wert gelegt. Auch die Vergleichbarkeit mit der Literatur wird so gewährleistet.

2.2 Lagerung der Stammsammlung

2.2.1 Material

Glycerol 99%, puriss. (C₃H₈O₃)

REF: 15523

Riedel-de Haën, in der Schweiz vertrieben von SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Buchs SG, www.sigma-aldrich.com

TRYPTONE SOYA BROTH USP

REF: TV5002E

Oxoid AG, Pratteln, Schweiz

CRYO. S, STERILE, 2ML, 12,5/38MM, YELL..CAP, SKIRT

REF: 122278

Greiner Bio-One Schweiz GmbH, St. Gallen, Schweiz, www.gbo.com

2.2.2 Durchführung

Zur Konservierung wurden alle Isolate nach zwei- bis dreifacher Subkultur wieder bei -80° C eingefroren. Als Medium diente ein 1:1-Gemisch von Trypton-Soya Bouillon und reinem Glycerin. Auf die etwa 24 h alten Reinkulturen auf Blutagar wurde 2,75 ml Medium gegeben und die Kolonien mit dem Drigalskispatel vom Nährboden gelöst. Diese Flüssigkeit wurde zur Lagerung in geeignete Röhrchen abgefüllt und bei -80° C eingefroren.

3 Überprüfung der Identität der Isolate

Vor Beginn der eigentlichen Untersuchungen, wurden alle ausgewählten Proben angezüchtet und auf ihre Identität überprüft.

3.1 Anzucht der gesammelten Stämme

3.1.1 Material

COLUMBIA-AGAR MIT SCHAFBLUT

REF: PB5008A

Oxoid AG, Pratteln, Schweiz

GASSNER-NÄHRBODEN

REF: PO5021A

Oxoid AG, Pratteln, Schweiz

STAPHYLOKOKKEN/STREPTOKOKKEN-SELEKTIVNÄHRBODEN

REF: PB5049A

Oxoid AG, Pratteln, Schweiz

3.1.2 Durchführung

Im Dreiösenausstrich wurden alle Isolate auf Blutagar ausgestrichen und im Brutschrank bei 37° C und 5 % CO₂ über Nacht inkubiert.

3.2 Gramfärbung

3.2.1 Material

- **Kristallviolett-Oxalat Lösung (R1-F)** Color Gram 2 zur Färbung von Mikroorganismen
REF: 55 545
bioMérieux (Suisse) SA, Genève, Schweiz
- **Stabilisierte Lugol-PVP Lösung (R2-F)** Color Gram 2 zur Färbung von Mikroorganismen
REF: 55 546
bioMérieux (Suisse) SA, Genève, Schweiz
- **Safranin-Lösung (R4-F)** Color Gram 2 zur Färbung von Mikroorganismen
REF: 55 548
bioMérieux (Suisse) SA, Genève, Schweiz
- **Ethanol C₂H₅OH**
REF: 40309216
SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Buchs SG, Schweiz, www.sigma-aldrich.com

3.2.2 Durchführung

Die Gramfärbung wurde nach folgendem akkreditiertem Protokoll durchgeführt:

1. Teil einer Kolonie in einem Tropfen steriler 0.9 %iger NaCl-Lösung auf einem Objektträger ausstreichen. Sobald der Ausstrich trocken ist, wird er zum Fixieren dreimal durch die Flamme geführt.
2. 3 Minuten mit Kristallviolett-Lösung färben.
3. Farblösung abgiessen. Nicht mit Wasser spülen.
4. Lugolsche Lösung über 2 Minuten zur Farbkomplexbildung einwirken lassen.
5. Farblösung abgiessen. Nicht mit Wasser spülen.
6. Das Präparat in einer Küvette mit Alkohol entfärben, bis keine Farbe mehr abgegeben wird. Es soll schwach graublau (grampositiv) bis farblos (gramnegativ) erscheinen.
7. Stoppen der Entfärbung durch gründliches Spülen mit Leitungswasser.
8. Kurze Gegenfärbung mit Safranin (nicht länger als 15 Sekunden).
9. Abspülen mit Leitungswasser und trocknen im Fliesspapierblock.

Anhand der Färbung konnte in der Regel die geeignete biochemische Methode zur weiteren Identitätsbestimmung gewählt werden.

3.3 Biochemische und immunologische Differenzierung

3.3.1 Material

BBL™ Enterotube™ II

REF : 273176

Becton Dickinson GmbH, BD Diagnostics, Allschwil, Schweiz

Streptex, Latex-Objektträger-Schnelltest für die Streptokokken-Gruppenbestimmung

REF: 30950501 ZL50

Remel Europe Ltd, in der Schweiz vertrieben von Oxoid AG, Pratteln

api® 20 NE

REF : 20050

bioMérieux (Suisse) SA, Genève, Schweiz

api® Staph

REF : 20500

bioMérieux (Suisse) SA, Genève, Schweiz

api® Strep

REF : 20600

bioMérieux (Suisse) SA, Genève, Schweiz

3.3.2 Durchführung

Gemäss Anleitung der Hersteller.

3.4 DNS-Amplifikation und Sequenzierung

Manchmal konnte mittels biochemischer Methoden die Identität der Mikroorganismen nicht eindeutig festgestellt werden. In diesen Fällen wurde die 16S rDNA amplifiziert und anschliessend zur Sequenzierung in ein spezialisiertes Labor geschickt.

3.4.1 Material

Amplifikation

- **HotStartTaq® Master Mix Kit**
Cat. no. 203445
QIAGEN AG , Hombrechtikon, Schweiz, www.qiagen.com
- **Primer 27F**
5' – CAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG – 3'
Eurofins scientific AG, Schönenwerd, Schweiz, www.eurofinsdna.com
- **Primer 1492R**
5' – TAC GG(CT) TAC CTT GTT ACG ACT T – 3'
Eurofins scientific AG, Schönenwerd, Schweiz, www.eurofinsdna.com
- **1kb DNA Ladder**
REF: N3232L

New England BioLabs, in der Schweiz vertrieben von BIOCONCEPT, Innovationszentrum Nordwestschweiz, Allschwil, www.bioconcept.ch

- **Gel Loading Dye Blue (6x)**
REF: B70215 (6x Concentrate)
New England BioLabs, in der Schweiz vertrieben von BIOCONCEPT, Innovationszentrum Nordwestschweiz, Allschwil, www.bioconcept.ch
- **GeneAmp PCR System 2400**
Part. No. N8030002
Applied Biosystems Deutschland GmbH, Darmstadt, Deutschland

Aufreinigung

- **QIAquick® PCR Purification Kit**
Cat. no. 28104
QIAGEN AG , Hombrechtikon, Schweiz, www.qiagen.com
- **GenElute™ PCR Clean-Up Kit**
REF: NA1020-1KT
SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Buchs SG, Schweiz, www.sigma-aldrich.com

Gel-Elektrophorese

- **AGAROSE Standard** Molecular Biology Grade
REF: GEPAGA07-66
Eurobio, Les Ulis, Frankreich
- *TAE-Puffer*
 - **TRIS (HYDROXYMETHYL) AMINOMETHANE** (C₄H₁₁NO₃)
Cat. No. 20092391
BIOSOLVE B. V., Valkenswaard, Niederlande, www.biosolve-chemicals.com
 - **Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate, 99+%** (Na₂EDTA)
REF: E5134-250G
SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Buchs SG, Schweiz, www.sigma-aldrich.com
 - **Essigsäure ROTIPURAN® 100%, p.a.** (C₂H₄O₂)
Art.-Nr. 3738.4
Roth AG, Reinach BL, Schweiz, www.carlroth.ch
- **Ethidiumbromid** (1%ige Lösung in Wasser) für die Elektrophorese
REF: HC619938
Merck (Schweiz) AG Chemicals, Zug, Schweiz, www.merck.ch

3.4.2 Durchführung

Amplifikation

Zur Herstellung der zu amplifizierenden DNA-Probe wurden 4-5 Kolonien einer über Nacht inkubierten Kultur in ca. 1 ml destilliertem Wasser gelöst. Nach 5 min kochen im Wasserbad sind die Zellwände der Bakterien aufgebrochen, ohne dass die DNA dabei zu stark zerstört wird. Für *Staphylococcus aureus* sind drei bis vier Minuten vorzuziehen.

Die Universalprimer 27F und 1492R wurden in einer Endkonzentration von 0.5 µmol/l Probe verwendet. Die hitzeresistente Polymerase ist als Master Mix erhältlich. Für die Negativkontrolle wurde als Probe reines H₂O verwendet.

12.5 µl Master Mix + 11.5 µl Primer Mix + 1 µl Probe → 25 µl PCR-Ansatz

Die DNA-Amplifikation im Thermocycler erfolgte nach folgendem Standard-Protokoll:

Zyklenzahl	Temperatur	Zeit
1 x	95°C	15min
35 x	94°C	30sec
	55°C	30sec
	72°C	45sec
1 x	72°C	10min
	4°C	∞

Aufreinigung

Viele bei der Amplifikation anfallende Nebenprodukte stören die Sequenzierung. Deshalb wurden die Proben mittels kommerziell erhältlichem Purification Kit[®] oder Clean-Up Kit[®] aufgereinigt. Siehe Anleitung der Hersteller.

Gel-Elektrophorese

Mittels Gel-Elektrophorese wurden die Amplifikate (inkl. Negativ-Probe) überprüft.

Als Laufpuffer und Basislösung fürs Agarosegel diente 1xTAE-Puffer (40 mM Tris, 20 mM Essigsäure und 1 mM EDTA), auf den pH 7.6 eingestellt und anschliessend autoklaviert.

Zur Herstellung eines 1 %igen Gels wurde jeweils 1g Agarose in 100 ml 1 x TAE-Puffer aufgelöst, in der Mikrowelle kurz aufgeköcht und unter Rühren auf ca. 50°C abgekühlt. Nach Zugabe von Ethidiumbromid (0.03 µl/ml Agarose-Gel) wurde das Gemisch in einen Gelträger mit eingelagertem Kunststoffkamm gegossen. Nach Aushärten der Gelmatrix wurde der Kamm entfernt, das Gel in das Elektrophoresegerät eingesetzt und die Kammer mit 1 x TAE-Puffer aufgefüllt. 5 µl der aufgereinigten Proben wurden mit 1 µl Blaupuffer gemischt und in die Vertiefungen im Agarosegel pipettiert. In der ersten Vertiefung lief zum Vergleich der Fragmentlänge ein Standard (1 kb-ladder) mit. Nach 45 min Laufzeit bei einer Spannung von 75 V, wurde das Ergebnis mittels UV-Licht-Photographie festgehalten.

Sequenzierung

Alle in der Gelelektrophorese nachgewiesenen Amplifikate wurden vom 4base-lab in Reutlingen (Deutschland) sequenziert. Die erhaltenen DNA-Sequenzen wurden mittels Fasta-Programm (Nucleotide Similarity Search, <http://www.ebi.ac.uk/Tools/fasta33/nucleotide.html>) mit einer umfangreichen Datenbank bekannter Sequenzen verglichen. Dabei war je nach Spezies eine Homologie der Genomabschnitte von mindestens 95-97 % ausschlaggebend. [63]

4 Inokulum für die Empfindlichkeitsprüfung der Bakterien gegenüber antimikrobiell wirksamen Substanzen

4.1 Material

Steriles Wasser

REF: 100 0 237

Laboratorium Dr. G. Bichsel AG, Interlaken, Schweiz

Natriumchlorid (NaCl), $\geq 99,5\%$, p.a., ACS, ISO

Art.-Nr. 3957.2

Roth AG, Reinach BL, Schweiz, www.carlroth.ch

Eppendorf BioPhotometer

No. 6131 00062

Dr. Vaudaux AG, Schönenbuch, Schweiz

4.2 Durchführung

Da nur gut wachsende Bakterien Gegenstand der Studie sind, wurde die direkte Keimsuspension gewählt.

Wie oben erwähnt, wurden von den eingefrorenen Proben Dreiösenausstriche auf Columbia Agar mit 5 % Schafblut erstellt. Diese wurden über Nacht im Brutschrank bei 37° C und 5 % CO₂ inkubiert.

Drei bis vier einzelne Bakterienkolonien wurden in 0.9 %iger NaCl-Lösung gelöst und die Trübung vorerst von Auge mit dem McFarland-Standard 0.5 verglichen. Gemäss Literatur entspricht der McFarland-Standard 0.5 einer Konzentration von 1-2x10⁸ CFU/ml für den *E. coli* Referenzstamm ATCC 25922. Die OD-Messung eines solchen Standards bei 600 nm hat den Wert 0.120 ergeben. Diesen Wert gilt es also bei der Einstellung des Inokulums mittels Photometrie zu erreichen, um eine Konzentration von etwa 10⁸ CFU/ml zu erhalten. Das Inokulum wurde entsprechend durch Zugabe von 0.9 %iger NaCl-Lösung oder Koloniematerial auf den Wert 0.120 (± 0.005) eingestellt. Essentiell ist dabei die Homogenität der Suspension. Nur wenn sich die Kolonien gut im Medium lösen, ist die Reproduzierbarkeit des Tests gewährleistet.

Zur Überprüfung der Inokulumdichte wurde regelmässig eine Koloniezählung mit dem *E. coli* Referenzstamm (s. Kapitel 7) durchgeführt. Wie vom CLSI vorgeschrieben, wurden dazu 10 µl des Inokulums für die Bouillondilution (s. Kapitel 6.2) mit 10 ml steriler 0.9 %iger NaCl-Lösung gemischt und davon 100 µl auf einer Blutplatte ausgestrichen. Nach 24-stündiger Inkubation bei 37° C wurden jeweils 10-50 Kolonien gezählt. Dies entspricht einer Inokulum-Konzentration von 1-5x10⁵ KBE/ml Medium.

Das Inokulum muss innerhalb von maximal 15 min verwendet werden!

Aus derselben Keimsuspension wurden sowohl der Bouillondilutions- als auch der Agardiffusionstest angesetzt. Dieses Vorgehen ermöglichte einen direkten Vergleich der beiden Methoden.

5 Agardiffusion

5.1 Material

Nährmedien und Antibiotika-Testplättchen wurden, soweit nicht anders angegeben, von Oxoid, Schweiz bezogen.

Nährmedien

- **COLUMBIA-AGAR MIT SCHAFBLUT**
REF: PB5008A
- **MUELLER-HINTON-NÄHRBODEN**
REF: PO5007A
- **MUELLER-HINTON-AGAR MIT SCHAFBLUT**
REF: PB5007A

Antibiotika-Testplättchen

- | | |
|--|--|
| - PENICILLIN G
P 10 iU, 5 x 50 discs
REF: CT0043B | - CEPHALOTHIN
KF 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0010B |
| - POLYMYXIN B
PB 300 iU, 5 x 50 discs
REF: CT0044B | - CEFTIOFUR
EFT 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT1751B |
| - AMPICILLIN
AMP 10 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0003B | - CEFTIOFUR
XNL 30 mcg, 4 X 50 discs
REF: 356 6658
Bio-Rad Laboratories, Schweiz |
| - COLISTIN SULPHATE
CT 10 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0017B | - CEPHAZOLIN
KZ 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0011B |
| - OXACILLIN
OX 1 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0159B | - CHLORAMPHENICOL
C 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0013B |
| - RIFAMPICIN
RD 5 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0207B | - FLORFENICOL
FFC 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT1754B |
| - CEFQUINOM
CEQ 10 mcg, 1 x 50 discs
REF: X4815A | - ERYTHROMYCIN
E 15 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0020B |
| - CEFEPIME
FEP 30 mcg, 4 X 50 discs
REF: 66098
Bio-Rad Laboratories, Schweiz | - GENTAMICIN
CN 10 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0024B |

- **CLINDAMYCIN**
DA 2 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0064B
- **AMIKACIN**
AK 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0107B
- **TETRACYCLINE**
TE 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0054B
- **NEOMYCIN**
N 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0033B
- **BAYTRIL ®/REG. TM OF BAYER (ENROFLOXACIN)**
ENR 5 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0639B
- **MARBOFLOXACINE**
MAR 5 mcg, 4 x 50 discs
REF: 356 7628
Bio-Rad Laboratories, Schweiz
- **TILMICOSIN**
TIL 15 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT1756B
- **AZITHROMYCIN**
AZM 15 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0906B
- **IMIPENEM**
IPM 10 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0455B
- **AMOXYCILLIN/CLAVULANIC ACID**
AMC 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0223B
- **VANCOMYCIN**
VA 30 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0058B
- **SULPHAMETHOXAZOLE/TRIMETH O-PRIM**
SXT 25 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0052B
- **SPECTINOMYCIN**
SH 100 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0823B
- **BACITRACIN**
B 10 iU, 5 x 50 discs
REF: CT0005B
- **METRONIDAZOLE**
MTZ 50 mcg, 5 x 50 discs
REF: CT0466B

DISC DESPENSER MK III (90mm) for 6 cartridges
REF: ST6090

5.2 Durchführung

Es wurde nach einer standardisierten Methode entsprechend den Vorschlägen des CLSI [39, 64, 65] gearbeitet. Mit dem photometrisch überprüften Inokulum wurden die Agarplatten beimpft. Dabei ist eine gleichmässige Verteilung der Kolonien äusserst wichtig (Abbildung 5).

Zwischen den drei Ausstrichen wurde die Platte um ca. 120 Grad gedreht. Zum Schluss wurde noch der Rand des Agars benetzt.

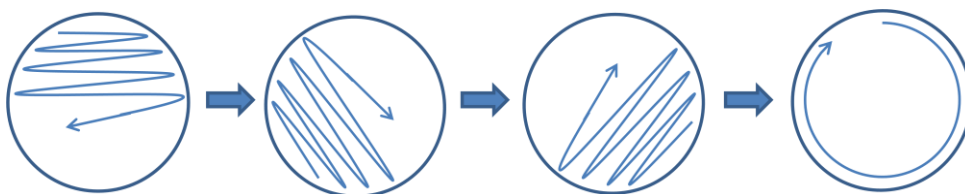


Abbildung 5: Die Agarplatten wurden je dreifach benetzt und dazwischen um je 120° gedreht.

Die bestrichenen Platten wurden 3-5 min getrocknet und anschliessend die Antibiotikum-impregnierten Testplättchen aufgelegt (Tabelle 5). Dazu wurden Stempel à sechs Kartuschen verwendet. Die Platten wurden 18-24 Stunden bei 37° C ohne CO₂-Anreicherung inkubiert und anschliessend ausgewertet.

Tabelle 5: Verteilung der 29 verschiedenen Testplättchen auf 5 Agarplatten (Ø 9 cm).

		Wirkstoff pro Testplättchen
1	Penicillin-G	10 U
	Polymyxin B	300 U
	Ampicillin	10 µg
	Colistin	10 µg
	Oxacillin	1 µg
	Rifampicin	5 µg
2	Cefquinom	10 µg
	Cefepime	10 µg
	Cephalothin	30 µg
	Ceftiofur	30 µg
	Cefazolin	30 µg
	Chloramphenicol	30 µg
	Florfenicol	30 µg
3	Erythromycin	15 µg
	Gentamicin	10 µg
	Clindamycin	2 µg
	Amikacin	30 µg
	Tetracyclin	30 µg
	Neomycin	30 µg
4	Enrofloxacin	5 µg
	Marbofloxacin	5 µg
	Tilmicosin	15 µg
	Azithromycin	15 µg
	Imipenem	10 µg
5	Amoxicillin-Clavulansäure (2:1)	20-10 µg
	Vancomycin	30 µg
	Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1)	23.75-1.25 µg
	Spectinomycin	100 µg
	Bacitracin	10 U
	Metronidazol	50 µg

Für die Auswertung der gemessenen Hemmhofdurchmesser wurden die international anerkannten Breakpoints des CLSI verwendet. Dabei wurde die Art und Spezies des jeweiligen Isolates, sowie dessen Herkunft, d.h. Tierspezies und Probenart berücksichtigt.

Zur Kontrolle der Inokulumdichte wurde die Ausgangssuspension zweimal 1:100 verdünnt und davon 10 µl auf Blutagar ausgestrichen. Die Anzahl gewachsener Kolonien multipliziert mit 10⁶ ergeben die ursprüngliche Inokulumdichte. Dabei konnte auch die Reinheit des Inokulums überprüft werden.

6 Bouillondilution

6.1 Material

Sensititer

- **MIC Plates for Testing of Veterinary Organisms**

REF: NLV72

TREK DIAGNOSTIC SYSTEMS LTD.

Imberhorne Lane, East Grinstead, West Sussex, RH19 1QX. England

- **Cation Adjusted Mueller-Hinton Broth with TES**

REF: T3462

TREK Diagnostic Systems

Imberhorne Lane, East Grinstead, West Sussex, RH19 1QX. England

Formel:

Meuller-Hinton Broth Base	21 g
---------------------------	------

TES Buffer	11.46 g
------------	---------

CA++	20-25 mg
------	----------

MG++	10-12 mg
------	----------

6.2 Durchführung

Für die Bouillondilution wurde kommerzielle Müller-Hinton-Bouillon verwendet. Durch die laufende Qualitätskontrolle durch den Hersteller war die korrekte Einstellung bezüglich Kationen-Gehalt und pH-Wert gesichert und eine Kontinuität in der Zusammensetzung gewährleistet.

Als Inokulum wurde die für die Agardiffusion hergestellte Suspension verwendet. Vor dem Ansatz der Agardiffusion, wurden 10 µl Inokulum in 11 ml Müller-Hinton Bouillon überführt und die Suspension homogenisiert.

Zum Beimpfen der MHK-Platten, wurde in jedes Loch mittels Mehrkanalpipette 50 µl Bouillon pipettiert. Um das Austrocknen zu verhindern, wurde die Platte anschliessend mit der mitgelieferten Folie abgedichtet. Zu Stapeln von max. 3 Stück wurden die Platten bei 37° C und normaler Atmosphäre 18 bis 24 Stunden bebrütet. Die Reinheit des Ansatzes wurde mit einem Dreiösenausstrich aus dem Rest der Bouillon auf Blutagar kontrolliert.

Die Auswertung erfolgte mittels Ablesespiegel. In einer ebenfalls mitgelieferten Tabelle wurde von Auge erkennbares Wachstum eingetragen. Dieses ist je nach Bakterien-Spezies unterschiedlich erkennbar. Einige verursachen eine homogene Trübung, andere wachsen schlierenartig. Die meisten sammeln sich jedoch in der Rundung der Vertiefung zu einem Knopf. CAVE: Eine verkratzte Unterseite darf nicht mit einem solchen Knopf verwechselt werden!

Bei allen mit einem Kreis bzw. mit einer Linie gekennzeichneten Feldern konnte Wachstum beobachtet werden (Abbildung 6). Um diesen Befund in MHK-Werte umzusetzen, wurde eine Schablone mit den entsprechenden Daten angefertigt. Diese wurde über die Befunde gelegt, womit die MHK-Werte der einzelnen Wirkstoffe direkt in µg/ml abgelesen werden konnte (Abbildung 7). Die tiefste Konzentration, die ein Wachstum verhindert hat, entspricht dem MHK-Wert.

Ref. No. Kontrolle
 Número do Malade Pacientes Nr
 Physician
 Medecin Arzt
 Date 8.5.2008
 Date Datum
 Organisme Organismus
 E. coli

Name Larissa Fuchs
 Nom Name
 Ward/Dept 20.25
 Salle/Service Station/Abteilung
 Culture Number ATCC 25922
 No de Culture Nr der Kulture
 Source/Site DSHZ
 Source anat d'echantillon Anat Herkunft der Probe

SENSITITRE[®]

Code J529HA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	○	—	—	—	—	—	—	○	○	—	○	
B	○	—	—	○								
C	○	—	—	○	○	○						
D											○	○
E												
F	○	—	—	—	—	—	—	—	—	—	○	
G												
H	○	—	○								✓	✓

SENSITITRE MADE IN THE UK

Abbildung 6: Auswertungsfomular der Sensititre MIC Plates[®] von MCS Diagnostics. In den gekennzeichneten Feldern konnte eine Trübung festgestellt werden. Die zwei Felder unten rechts entsprechen den Wachstumskontrollen.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	PEN	AMC	AMC	AMC	AMC
	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	0.5/0.25	1/0.5	2/1	4/2
B	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP	AMC	AMC	AMC
	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	8/4	16/8	32/16
C	OXA	OXA	OXA	OXA	OXA	CEL	CEL	CEL	CEL	CEZ	CEZ	CEZ
	0.25	0.5	1	2	4	4	8	16	32	4	8	16
D	CEV	CEV	CEV	CEV	CEV	CEV	CEQ	CEQ	CEQ	CEQ	CHL	CHL
	0.25	0.5	1	2	4	8	1	2	4	8	2	4
E	TET	TET	TET	TET	TET	SXT	SXT	SXT	SXT	SXT	CHL	CHL
	1	2	4	8	16	4.8/0.3	9.5/0.5	19/1	38/2	76/4	8	16
F	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY	ERY	CLI	CLI	CLI	CLI	CLI
	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	0.25	0.5	1	2	4
G	AMI	AMI	AMI	AMI	GEN	GEN	GEN	GEN	COL	COL	COL	COL
	8	16	32	64	1	2	4	8	0.5	1	2	4
H	RIF	RIF	RIF	RIF	ENR	ENR	ENR	ENR	ENR	ENR	GC	GC
	0.5	1	2	4	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	0	0

sensibel – intermediär – resistent Die roten Balken repräsentieren die Breakpoints.

Abbildung 7: Schablone für die Auswertung der Sensititer-Resultate.

7 Qualitätskontrolle

7.1 Material

Für die externe Qualitätskontrolle wurden die vom CLSI vorgeschlagenen Referenzstämme verwendet.

- | | |
|-----------------------------------|------------|
| - <i>Escherichia coli</i> | ATCC 25922 |
| - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | ATCC 27853 |
| - <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 25923 |
| - <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 29213 |
| - <i>Enterococcus faecalis</i> | ATCC 29212 |
| - <i>Streptococcus pneumoniae</i> | ATCC 49619 |

Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Braunschweig, Deutschland

7.2 Durchführung

Es wurden zur externen Qualitätssicherung regelmässig sechs Referenzstämme mitgeführt, zur internen Qualitätssicherung alle Versuche doppelt durchgeführt. Dazu wurden jeweils Subkulturen hergestellt und diese dann an einem anderen Tag nochmals getestet.

Ergebnisse

1 Evaluation einer alternativen Testmethode für die Routinediagnostik am Institut für Veterinärbakteriologie in Zürich

1.1 Wahl des geeigneten Testverfahrens

Ziel dieser Studie war es, ein für die Routinediagnostik des IVB ZH geeignetes Testverfahren zu etablieren. Es boten sich hierfür v.a. die Agardiffusion als bewährte, gut untersuchte Methode und die Bouillondilution als aktuelleres, präziseres, bzw. direktes Verfahren an. Diese beiden Testmethoden wurden nun im Rahmen dieser Arbeit validiert und mit dem kommerziell erhältlichen Routinetest (ATB VET von Biomérieux, s. Kapitel 2.6.2.3 Breakpoint-Studie) verglichen.

Dazu mussten in einem ersten Schritt die zu testenden antimikrobiellen Wirkstoffe ausgewählt werden. In einem zweiten Schritt wurden die Layouts der zwei Testverfahren erarbeitet.

1.2 Auswahl der antimikrobiellen Wirkstoffe

Bei der Auswahl der zu testenden antimikrobiellen Wirkstoffe wurde von jeder veterinärmedizinisch relevanten pharmakologischen Wirkstoffgruppe (s. Tabelle 1 im Anhang) mindestens ein Vertreter berücksichtigt. Des Weiteren wurden die Wirkstoffe aller Arzneimittel mit Zulassung der Swissmedic (s. Tabelle 2 im Anhang) in die Liste der in Frage kommenden Substanzen aufgenommen. Da ein Einsatz des erarbeiteten Testverfahrens in der Routinediagnostik angestrebt wurde, interessierte auch die Verwendung der verschiedenen Präparate in der Klinik (s. Tabelle 3 im Anhang). Für eine korrekte Auswertung der Daten sind Referenzwerte unabdingbar. Deshalb musste auf die publizierten Daten (insbesondere des CLSI) Rücksicht genommen werden (s. Tabelle 4 im Anhang). Dies stellt zudem die Vergleichbarkeit der Resultate auf internationaler Ebene sicher.



Abbildung 8: Auswahl der zu testenden Antibiotika

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die gewählten Antibiotika und Chemotherapeutika.

Tabelle 6: Liste der getesteten Antibiotika und Chemotherapeutika

Zellwandsynthesehemmer	
<i>Penicillin-G</i>	P
<i>Ampicillin</i>	AMP
<i>Amoxicillin-Clavulansäure</i>	AMC
<i>Oxacillin</i>	OX
<i>Cephalothin</i>	KF
<i>Cefazolin</i>	KZ
<i>Ceftiofur</i> ¹	EFT
<i>Cefovecin</i> ²	CEV
<i>Cefquinom</i>	CEQ
<i>Imipenem</i> ¹	IPM
<i>Bacitracin</i> ¹	B

Proteinsynthesehemmer	
<i>Gentamicin</i>	CN
<i>Neomycin</i> ¹	N
<i>Amikacin</i>	AK
<i>Tetracyclin</i>	TE
<i>Chloramphenicol</i>	C
<i>Florfenicol</i> ¹	FFC
<i>Spectinomycin</i> ¹	SH
<i>Erythromycin</i>	E
<i>Azithromycin</i> ¹	AZM
<i>Clindamycin</i>	DA
<i>Tilmicosin</i> ¹	TIL
<i>Rifampicin</i>	RD
<i>Vancomycin</i> ¹	VA

DNS-Gyrasehemmer	
<i>Enrofloxacin</i>	ENR
<i>Marbofloxacin</i> ¹	MAR
<i>Sulfamethoxazol-Trimethoprim</i>	SXT

Hemmer der Membranfunktion	
<i>Polymyxin (B)</i> ¹	PB
<i>Colistin</i>	CT

Radikalbildner	
<i>Metronidazol</i> ¹	MTZ

¹ gekennzeichnete Wirkstoffe wurden nur mittels Agardiffusion getestet.

² Cefovecin wurde anstelle von Ceftiofur nur mittels Bouillondilution getestet.

1.3 Gestaltung der gewählten Testverfahren

1.3.1 Agardiffusion

Für die Durchführung der Empfindlichkeitsprüfung mittels Agardiffusion wurden die 29 gewählten Antibiotika auf 5 Agarplatten verteilt. Dabei musste auf die zu erwartenden Hemmhofdurchmesser Rücksicht genommen werden. Sollten sich diese überschneiden, ist eine genaue Ablesung nicht mehr möglich. Als Anhaltspunkt wurden dafür die jeweiligen Breakpoints verwendet (s. Anhang, Tabellen 5-7).

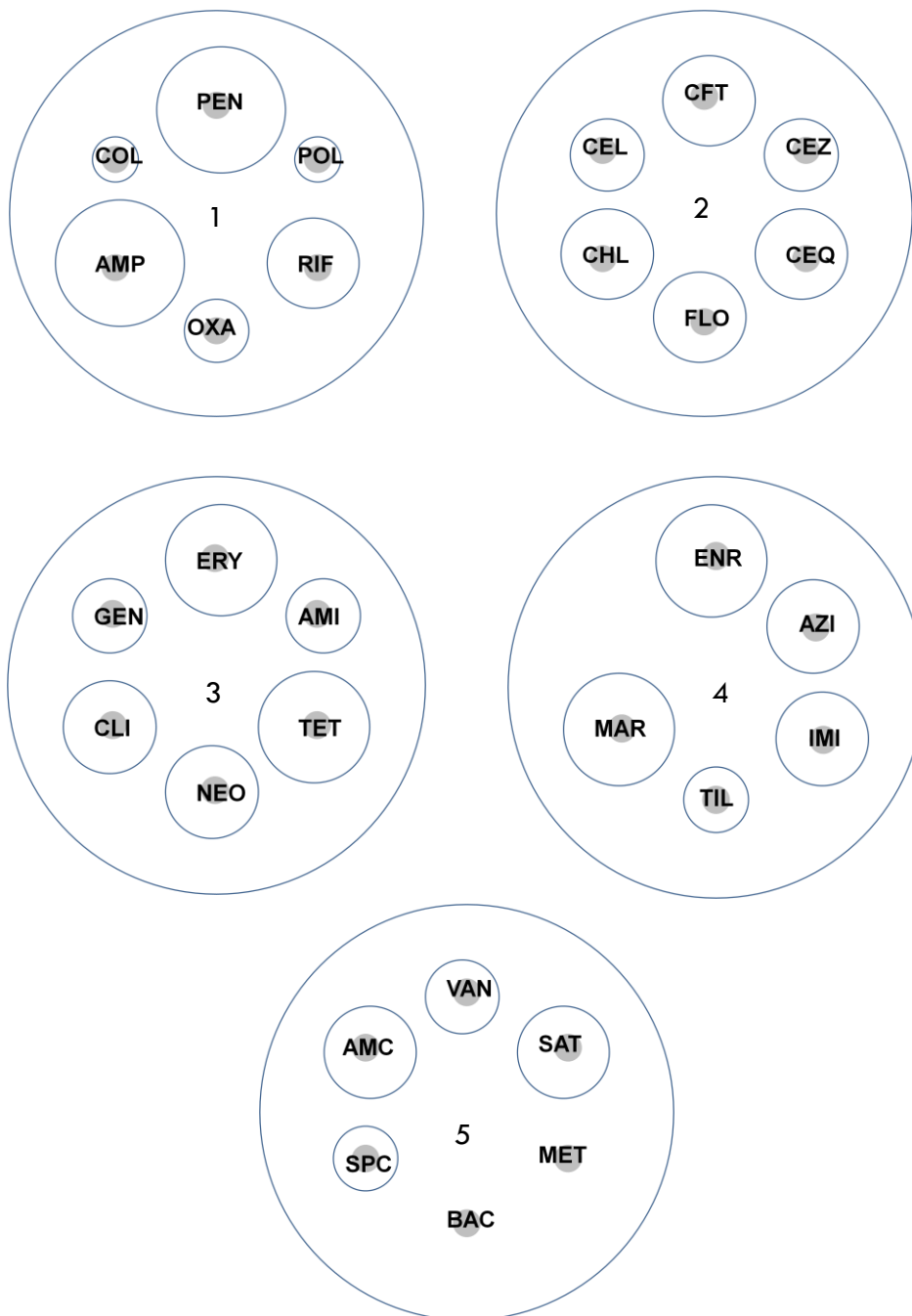


Abbildung 9: Verteilung der Antibiotika-Testplättchen auf 5 Agarplatten. Die Kreise stellen die den durchschnittlichen Breakpoints entsprechenden Hemmhofdurchmesser dar. Für Bacitracin und Metronidazol konnten keine entsprechenden Werte gefunden werden.

1.3.2 Bouillondilution

Pathogene Bakterien von Pferden und Kleintieren sollten genauer auf ihre Empfindlichkeit gegenüber therapeutisch eingesetzten antimikrobiellen Wirkstoffen getestet werden können. In Anlehnung an die Layout-Vorschläge der Arbeitsgruppe SCHWARZ et al. [66, 67] wurde ein spezifisches Layout für die Routinediagnostik des IVB ZH zusammengestellt.

Neben den zu testenden Wirkstoffen wurden auch deren Konzentrationsstufen festgelegt. Um die Resultate korrekt auswerten zu können, mussten dafür die Breakpoints nach CLSI (s. Anhang, Tabellen 8-10) für die verschiedenen zu testenden Bakterienspezies berücksichtigt werden. Abbildung 10 zeigt das erarbeitete Layout.

PEN 0.125	PEN 0.25	PEN 0.5	PEN 1	PEN 2	PEN 4	PEN 8	PEN 16	AMC 0.5, 0.25	AMC 1, 0.5	AMC 2, 1	AMC 4, 2
AMP 0.12	AMP 0.25	AMP 0.50	AMP 1	AMP 2	AMP 4	AMP 8	AMP 16	AMP 32	AMC 8, 4	AMC 16, 8	AMC 32, 16
OXA 0.25	OXA 0.5	OXA 1	OXA 2	OXA 4	CEL 4	CEL 8	CEL 16	CEL 32	CEZ 4	CEZ 8	CEZ 16
CEV 0.25	CEV 0.5	CEV 1	CEV 2	CEV 4	CEV 8	CEQ 1	CEQ 2	CEQ 4	CEQ 8	CHL 2	CHL 4
TET 1	TET 2	TET 4	TET 8	TET 16	SXT 4.75, 0.25	SXT 9.5, 0.5	SXT 19, 1	SXT 38, 2	SXT 76, 4	CHL 8	CHL 16
ERY 0.125	ERY 0.25	ERY 0.5	ERY 1	ERY 2	ERY 4	ERY 8	CLI 0.25	CLI 0.5	CLI 1	CLI 2	CLI 4
AMI 8	AMI 16	AMI 32	AMI 64	GEN 1	GEN 2	GEN 4	GEN 8	COL 0.5	COL 1	COL 2	COL 4
RIF 0.5	RIF 1	RIF 2	RIF 4	ENR 0.063	ENR 0.125	ENR 0.25	ENR 0.5	ENR 1	ENR 2	GC	GC

PEN	Penicillin-G	0.125 - 16 µg/ml
AMP	Ampicillin	0.125 - 32 µg/ml
AMC	Amoxicillin-Clavulansäure (2 :1)	0.5/0.25 - 32/16 µg/ml
OXA	Oxacillin	0.25 - 4 µg/ml
CEL	Cephalotin	4 - 32 µg/ml
CEZ	Cefazolin	4 - 16 µg/ml
CEV	Cefovecin	0.25 - 8 µg/ml
CEQ	Cefquinom	1 - 8 µg/ml
CHL	Chloramphenicol	2 - 16 µg/ml
TET	Tetracyclin	1 - 16 µg/ml
SXT	Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1)	4.75 - 0.25 µg/ml
ERY	Erythromycin	0.125 - 8 µg/ml
CLI	Clindamycin	0.25 - 4 µg/ml
AMI	Amikacin	8 - 64 µg/ml
GEN	Gentamicin	1 - 8 µg/ml
COL	Colistin	0.5 - 4 µg/ml
RIF	Rifampicin	0.5 - 4 µg/ml
ENR	Enrofloxacin	0.063 - 2 µg/ml
GC	Growth Control	ohne Wirkstoff

Abbildung 10: MHK-Layout für Pferd, Hund und Katze (Zürich)

1.4 Validierung der gewählten Testverfahren

1.4.1 Kontrolle anhand von Referenzstämmen

Zur Überprüfung der korrekten Einstellung und Durchführung der gewählten Testverfahren wurden regelmässig die vom CLSI für die Qualitätskontrolle vorgeschlagenen ATCC Referenzstämmen mitgeführt [64].

Um die verschiedenen Testmethoden miteinander vergleichen zu können, wurden die Bouillondilution und die Agardiffusion jeweils aus demselben Inokulum angesetzt. Die Resultate wurden im Anschluss mit den Referenzdaten vom CLSI verglichen. Bei der Bouillondilution waren die erhaltenen Resultate prozentual wesentlich häufiger innerhalb der vorgeschriebenen Bandbreite als bei der Agardiffusion. Tabelle 7: Externe Kontrolle der Agardiffusion anhand von ATCC Referenzstämmen und Tabelle 8 zeigen, wie viele Resultate der jeweiligen Referenzstämmen innerhalb der vorgegebenen Bereiche lagen.

Tabelle 7: Externe Kontrolle der Agardiffusion anhand von ATCC Referenzstämmen

Nr.	Stamm	innerhalb ¹	ausserhalb ²	Anzahl Referenzwerte ³	Abweichung [%]
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	12.1	5.9	18	32.8
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.8	0.2	7	2.9
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>	18.0	6.0	24	25.0
ATCC 49619	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6.7	6.3	13	48.5

¹ durchschnittliche Anzahl an Resultaten, die im Referenzbereich lag

² durchschnittliche Anzahl an Resultaten, die ausserhalb des Referenzbereiches lag

³ beschreibt die Anzahl der getesteten antimikrobiellen Wirkstoffe (29), für welche das CLSI Referenzwerte veröffentlicht hat [64]

Mit Ausnahme eines Hemmhofdurchmessers von Spectinomycin bei *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 waren alle abweichenden Resultate kleiner als die vom CLSI vorgegebenen Referenzwerte. Bei *Escherichia coli* ATCC 25922 waren alle Hemmhofdurchmesser von Oxacillin (0 mm), Ceftiofur (22-24 mm), Florfenicol (19-20 mm) und Enrofloxacin (24-29mm) kleiner als die Referenzwerte (OXA 18-24 mm, EFT 28-31 mm, FFC 22-28 mm, ENR 32-40 mm). Bei *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 waren die Hemmhofdurchmesser von Cefquinom (19-22 mm), Ceftiofur (21-26 mm), Tetracyclin (19-24 mm) und Enrofloxacin (22-26 mm) meist kleiner als die Referenzwerte (CEQ 25-33 mm, EFT 27-31 mm, TET 24-30 mm, ENR 27-31 mm).

Tabelle 8: Externe Kontrolle der Bouillondilution anhand von ATCC Referenzstämmen

Nr.	Stamm	innerhalb ¹	ausserhalb ²	Anzahl Referenzwerte ³	Abweichung [%]
ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>	13	0	13	0
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13	0	7	0
ATCC 29213	<i>Staphylococcus aureus</i>	15.4	0.6	16	3.8
ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>	12.1	0.9	13	6.9
ATCC 49619	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	11.2	0.8	12	6.7

¹ durchschnittliche Anzahl an Resultaten, die im Referenzbereich lag

² durchschnittliche Anzahl an Resultaten, die ausserhalb des Referenzbereiches lag

³ beschreibt die Anzahl der getesteten antimikrobiellen Wirkstoffe (18), für welche das CLSI Referenzwerte veröffentlicht hat [64]

Bei *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 lagen zwei von neun MHK-Werten bei 0.25 µg/ml statt der vom CLSI vorgegebenen 0.5-2 µg/ml. Ein MHK-Wert von Cefovecin lag unterhalb des getesteten Bereichs statt bei 0.5-2 µg/ml und ein MHK-Wert von Enrofloxacin bei 0.25 µg/ml statt der vorgegebenen 0.03-0.125 µg/ml. Bei *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 lagen sieben von acht MHK-Werten unterhalb des getesteten Bereichs, statt bei 0.5-4 µg/ml. Alle anderen Werte dieses Bakterienstammes lagen im Referenzbereich. *Streptococcus pneumoniae* ATCC 49619 wurde nicht wie vorgeschrieben mit Blutzusatz, sondern mit normaler Müller-Hinton Bouillon getestet. Trotzdem lagen die meisten MHK-Werte im vorgeschriebenen Bereich. Vier von neun MHK-Werten von Chloramphenicol lagen unterhalb des getesteten Konzentrationsbereichs statt bei 2-8 µg/ml. Und zwei von neun MHK-Werten von Amoxycillin-Clavulansäure lagen mit 1-0.5 µg/ml über dem vorgegebenen Referenzbereich.

1.4.2 Vergleich von zwei unabhängigen Testdurchgängen

Im Sinne einer internen Kontrolle wurden alle Isolate doppelt getestet. Von Subkulturen der Wachstumskontrollen wurden an einem der folgenden Tage nochmals alle Resultate erhoben und verifiziert. Die Reproduzierbarkeit gibt wichtige Hinweise auf die Verlässlichkeit der Testverfahren im Hinblick auf deren Anwendung in der Routinediagnostik.

Die Tabellen 9 und 10 geben einen Überblick. In der Folge werden besondere Eigenheiten der jeweils getesteten Bakterienspezies gegenüber einzelnen Wirkstoffen und Unterschiede zwischen den jeweiligen Testverfahren aufgezeigt.

Die Auswertungen wurden mit den gewerteten und den ungewerteten Resultaten durchgeführt. Bei den ungewerteten Resultaten handelt es sich um die mm Hemmhofdurchmesser bzw. die MHK, während bei den gewerteten Resultaten bereits eine Einteilung in sensibel, intermediär und resistent stattgefunden hat.

Zur Qualifizierung der Abweichungen zwischen zwei gewerteten Testresultaten, sind diese in „minor differences“ und „major differences“ unterteilt worden:

minor difference	Als kleiner Unterschied wurden Abweichungen von sensibler oder resistenter gegenüber intermediärer Einstufung gewertet.
major difference	Grosse Unterschiede waren zu verzeichnen, wenn die Resultate desselben Isolates einmal als sensibel und einmal als resistent ausfielen.
Anzahl (m)	widerspiegelt die Anzahl getesteter Isolate, für welche Breakpoints zur Auswertung der Resultate zur Verfügung stehen.
Anzahl (n)	entspricht der Anzahl aller zweifach getesteten Isolate.

Interne Kontrolle der Agardiffusion

Tabelle 9: Unterschiede zwischen zwei unabhängigen Testdurchläufen in der Agardiffusion

	gewertete Resultate ¹				ungewertete Resultate ²			
	kein Fehler [%]	minor diff. [%]	major diff. [%]	Anzahl (m)	± 0-2 mm HHD [%]	± 3-5 mm HHD [%]	± ≥6 mm HHD [%]	Anzahl (n)
Penicillin	98.1	0	1.9	159	82.5	10.2	7.3	439
Ampicillin	89.5	8.0^{a)}	2.4^{a)}	373	80.5	12.9	6.6	439
Colistin	100.0	0.0	0.0	14	95.7	2.9	1.4	439
Oxacillin	96.5	0.0	3.5^{b)}	115	90.9	6.1	2.9	439
Rifampicin	83.3	16.7^{c)}	0.0	30	76.9	17.5	5.7	439
Cephalothin	91.3	8.4^{d)}	0.2	439	82.3	12.2	5.4	439
Ceftiofur	97.1	2.9	0.0	35	72.5	17.1	10.4	433
Cefazolin	97.0	1.8	1.1	439	80.0	12.5	7.5	439
Chloramphenicol	90.8	8.7^{e)}	0.5	424	80.1	15.8	4.1	439
Florfenicol	81.8	9.1^{f)}	9.1^{f)}	11	79.6	15.2	5.2	439
Erythromycin	93.4	6.6^{g)}	0.0	226	86.4	10.2	3.4	439
Gentamicin	92.3	4.8^{h)}	3.0^{h)}	439	84.4	11.6	4.1	439
Clindamicin	100.0	0.0	0.0	24	87.8	9.8	2.5	439
Amikacin	92.7	5.7ⁱ⁾	1.6	439	83.0	14.3	2.7	439
Tetracyclin	83.6	14.1^{j)}	2.3^{j)}	439	76.9	16.8	7.3	439
Enrofloxacin	75.6	24.4^{k)}	0.0	123	76.9	16.6	6.6	439
Marbofloxacin	88.3	10.7^{k)}	1.0	103	75.1	16.8	8.1	394
Imipenem	98.6	1.4	0.0	436	77.3	13.2	9.5	439
Amoxicillin-Clavulansäure (2:1)	96.6	2.1	1.4	439	81.6	11.3	7.0	439
Vancomycin	96.9	3.1	0.0	226	92.1	7.5	0.5	439
Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1)	96.8	2.2	1.1	277	77.1	14.5	8.4	439
total	92.8	6.0	1.2	5214	83.32	11.73	4.95	12534

¹ zeigen die Unterschiede zwischen den zwei unabhängigen Testdurchläufen nach erfolgter Wertung und Klassifizierung in „sensibel“, „intermediär“ bzw. „resistent“.

² zeigen die absoluten Unterschiede in mm Hemmhofdurchmesser (HHD) bei allen getesteten Bakterienstämmen.

- a) Weitaus am meisten **minor differences** im Test gegen **Ampicillin** zeigten hämolysierende *Escherichia coli* (30.2%). Von den 43 doppelt getesteten Isolaten waren zwölf das eine mal als sensibel und das andere mal als intermediär zu werten. Aber auch die Fehlerquoten von nicht-hämolysierenden *E. coli* (12.7%) und anderen *Enterobacteriaceae* (4.9%) sowie α -hämolysierenden *Streptococcus species* (13.3%) waren relativ hoch. Die meisten **major differences** im Test gegen **Ampicillin** fanden sich bei koagulasenegativen *Staphylococcus species* (7.7%), gefolgt von den *Enterobacteriaceae* (4.9%), β -hämolysierenden *Streptococcus species* (4.5%) und *Staphylococcus aureus*-Isolaten (3.7%).

- b) Die 3.5% **major differences** im Test gegen **Oxacillin** sind auf sechs koagulasenegative *Staphylococcus*-Isolate zurückzuführen. Nur für *Staphylococcus* species gibt es Breakpoints zur Auswertung der Hemmhofdurchmesser im Test gegenüber Oxacillin, so dass nur diese in die Auswertung mit einbezogen werden konnten.
- c) Die 16.7% **minor differences** des **Rifampicins** entsprechen fünf von 30 getesteten *Enterococcus* species-Isolaten. Für andere Bakterien species wurden noch keine Breakpoints veröffentlicht.
- d) Auch im Test gegen **Cephalothin** waren bei den hämolysierenden *E. coli* mit 34.9% **minor differences** weitaus am meisten Fehler aufgetreten. Es waren jedoch auch bei nicht-hämolysierenden *E. coli* (15.9%), *Enterococcus* species (10.0%), *Staphylococcus aureus* (11.1%) und Koagulase-negativen *Staphylococcus*-Isolaten (6.1%) viele minor differences aufgetreten. Allgemein traten major differences jedoch nur sehr selten auf.
- e) Die 8.7% **minor differences** im Test gegen **Chloramphenicol** setzten sich zusammen aus grösseren Fehlerquoten bei hämolysierenden *E. coli* (20.9%), α -hämolysierenden *Streptococcus* species (35.6%, 16 von 45 Isolaten), *Enterococcus* species (13.3%), *Staphylococcus aureus* (11.1%) und β -hämolysierenden *Streptococcus*-Isolaten (9.1%).
- f) Für die Auswertung der MHK-Werte von **Florfenicol** hat das CLSI nur Breakpoints für *Streptococcus suis*-Isolate vom Schwein veröffentlicht. Bei den elf getesteten Stämmen, sind ein minor und ein major difference aufgetreten.
- g) Die vorgeschlagenen Breakpoints von **Erythromycin** sind nur auf *Staphylococcus* species und *Streptococcaceae* anzuwenden. Major differences sind gar nie aufgetreten, **minor differences** hingegen gehäuft bei *Staphylococcus aureus* (14.8%), *Staphylococcus pseudintermedius* (8.1%) und *Enterococcus* species (13.3%)
- h) Während bei gramnegativen Bakterien kaum Fehler im Test gegen **Gentamicin** auftraten, waren die Quoten v.a. bei *Streptococcaceae* hoch. β -hämolysierende *Streptococcus* species zeigten 13.6% minor und 9.1% major differences, α -hämolysierende *Streptococcus* species 17.8% minor differences und 2.2% major differences und *Enterococcus* species 6.7% minor und 23.3% major differences. Die 23.3% major differences von *Enterococcus* species repräsentieren sieben von 30 getesteten Stämmen, wobei alle zuerst als sensibel und in der Subkultur als resistent getestet wurden.
- i) Die 5.7% **minor differences** im Test gegen **Amikacin** sind ebenfalls auf grössere Fehlerquoten bei den *Streptococcaceae* zurückzuführen. Bei den β -hämolysierenden *Streptococcus* species waren es 22.7% (5 von 22), bei den α -hämolysierenden *Streptococcus* species 22.2% (10 von 45) und bei den *Enterococcus* species 10.0% (3 von 30 getesteten Isolaten).
- j) **Major differences** im Test gegen **Tetracyclin** traten fast nur bei anderen *Enterobacteriaceae* als *E. coli* auf (14.6%). So waren zum Beispiel fünf der sechs getesteten *Pantoea agglomerans*-Isolate im ersten Durchgang als sensibel einzustufen und in der Subkultur als resistent. **Minor differences** traten hingegen häufig (14.1%) und bei verschiedenen Bakteriengruppen auf. Hämolysierende *E. coli* zeigten 30.2% (13 von 43 Isolaten) minor differences, nicht-hämolysierende *E. coli* 23.8% (15 von 63), andere *Enterobacteriaceae* 9.8%, *Staphylococcus aureus* 14.8%, β -hämolysierende *Streptococcus* species 31.8% (7 von 22), α -hämolysierende *Streptococcus* species 20.0% (9 von 45) und *Enterococcus* species 23.3% (7 von 30).
- k) Ebenfalls gehäuft **minor differences** traten im Test gegen Enrofloxacin und Marbofloxacin auf. Die vom CLSI vorgeschlagenen Breakpoints gelten nur für Isolate aus Hautproben von

Katzen und Hunden, sowie Proben aus dem Harntrakt von Hunden. In die Auswertung der Resultate von Enrofloxacin können zusätzlich Isolate aus Proben des Respirationstraktes von Hunden mit einbezogen werden.

Von den *Staphylococcus pseudintermedius*-Isolaten zeigten 19.0% (4 von 21) minor differences im Test gegen **Enrofloxacin**, von den Koagulase-negativen *Staphylococcus* species 17.6% (3 von 17), von den β -hämolyisierende *Streptococcus* species zwei von drei Isolaten und bei den *Enterococcus* species zwei von fünf Isolaten.

Minor differences im Test gegen **Marbofloxacin** traten bei α -hämolyisierende *Streptococcus* species (1 von 3 Isolaten) und *Enterococcus* species (3 von 4 Isolaten) auf.

In den minor differences sind Abweichungen von intermediär eingestuften MHK-Werten zu sensibler bzw. zu resistenter Einstufung zusammengefasst. Es hat sich aber gezeigt, dass nur 29.9 % der minor differences einen Unterschied zwischen intermediär und resistent aufweisen, während 70.1 % einmal als intermediär und einmal als sensibel getestet wurden.

Interne Kontrolle der Bouillondilution

Tabelle 10: Fehler zwischen zwei unabhängigen Testdurchläufen in der Bouillondilution

	gewertete Resultate ¹				ungewertete Resultate ²			
	kein Fehler [%]	minor diff. [%]	major diff. [%]	Anzahl (m)	$\pm \leq 1$ log ₂ [%]	± 2 log ₂ [%]	$\pm \geq 3$ log ₂ [%]	Anzahl (n)
Penicillin	94.9	0.0	5.1^{a)}	158	95.9	3.0	1.1	440
Ampicillin	96.5	2.7	0.8	374	95.5	3.9	0.7	440
Amoxicillin-Clavulansäure (2:1)	97.3	2.0	0.7	440	97.3	2.3	0.5	440
Oxacillin	95.3	0.0	4.7^{b)}	128	96.8	2.5	0.7	439
Cephalothin	94.5	4.8^{c)}	0.7	440	95.9	3.6	0.5	440
Cefazolin	97.7	1.8	0.5	440	97.7	1.4	0.9	440
Chloramphenicol	95.5	3.8^{d)}	0.8	440	95.7	3.9	0.5	440
Tetracyclin	96.1	2.5	1.4	439	92.0	5.9	2.0	440
Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1)	98.6	0.4	1.1	277	95.2	3.0	1.8	439
Erythromycin	97.4	2.6	0.0	227	96.6	3.0	0.5	440
Clindamycin	100.0	0.0	0.0	23	98.9	0.7	0.5	440
Amikacin	95.7	3.0	1.4	440	93.0	4.8	2.3	440
Gentamicin	91.4	7.7^{e)}	0.9	440	91.4	7.0	1.6	440
Rifampicin	96.7	0.0	3.3^{f)}	30	98.6	0.9	0.5	440
Enrofloxacin	98.3	1.7	0.0	116	92.7	5.7	1.6	438
total	95.9	3.0	1.1	4502	95.63	3.27	1.10	7915

¹ zeigen die Unterschiede zwischen den zwei unabhängigen Testdurchläufen nach erfolgter Wertung und Klassifizierung in „sensibel, „intermediär“ bzw. „resistent“.

² zeigen die absoluten Unterschiede in Verdünnungsstufen (log₂) bei allen getesteten Bakterienstämmen.

- a) Die **5.1% major differences** zwischen den Resultaten der zwei Empfindlichkeitsprüfungen gegen **Penicillin** sind in erster Linie auf die *Enterococcus* species (6.7%) und *Staphylococcus pseudintermedius*-Isolate (5.4%) zurückzuführen. Es wurden aber auch bei koagulasenegativen *Staphylococcus* species und *Staphylococcus aureus*-Isolaten Fehlerquoten von 4.6% bzw. 3.7% gemessen. Für gram-negative Erreger sind keine Breakpoints für Penicillin bekannt, weshalb sie nicht in diese Auswertung miteinbezogen werden können.
- b) Für **Oxacillin** sind vom CLSI nur Breakpoints für *Staphylococcus* species veröffentlicht worden. Die **4.7% major differences** stammen von koagulasenegativen *Staphylococcus* species (7.7%) und *Staphylococcus aureus* (3.7%).
- c) Auffallend viele **minor differences** zwischen den zwei Testdurchgängen gegen **Cephalothin** sind bei den *Escherichia coli* aufgetreten. Diejenigen mit Hämolyse wiesen eine Fehlerquote von 14.0% auf, diejenigen ohne Hämolyse 10.8%. Bei den gram-negativen Bakterien wiesen *Staphylococcus aureus*-Isolate mit einer minor difference-Quote von 7.4% und α -hämolysierende *Streptococcus* species mit 4.3% bedeutende Abweichungen auf.
- d) Die **3.8% minor differences** zwischen den zwei Testdurchgängen gegen **Chloramphenicol** setzen sich zusammen aus grösseren Fehlerquoten bei α -hämolysierende *Streptococcus* species (13.0%), nicht-hämolysierenden *Escherichia coli* (7.7%), *Staphylococcus aureus* (7.4%) und anderen *Enterobacteriaceae* als *E. coli* (7.3%). Zwischen den zwei Testdurchgängen der 43 *Escherichia coli*-Isolaten mit Hämolyse sind gegenüber Chloramphenicol weder minor noch major differences aufgetreten.
- e) Die höchste aller durchschnittlichen Fehlerquoten betrifft die **minor differences** im Testvergleich gegenüber **Gentamicin**. *Enterococcus* species (30.0%) und *Pseudomonas aeruginosa* (25%) sind wesentlich häufiger betroffen als andere Bakterienarten. Ebenfalls bedeutende Fehlerquoten wiesen Koagulase-negative *Staphylococcus* species (9.2%) und *Staphylococcus pseudintermedius* (8.1%) auf.
- f) Ein *Enterococcus casseliflavus*-Isolat wurde das eine Mal gegenüber **Rifampicin** sensibel und das andere Mal resistent getestet. Es sind nur für *Enterococcus* species entsprechende Breakpoints publiziert worden.

1.4.3 Vergleich der Bouillondilution mit der Agardiffusion und dem aktuellen Routinetest des Instituts für Veterinär bakteriologie in Zürich

Die Bouillondilution ist als Goldstandard anerkannt. Sie diene deshalb als Vergleichsbasis für die Evaluation der Agardiffusion und des ATB-Tests von Biomérieux. Die Resultate der Agardiffusion bzw. des ATB-Tests wurden den entsprechenden Resultaten der Bouillondilution gegenübergestellt, um die Abweichungen zu quantifizieren und qualifizieren.

Tabellen 11 und 12 zeigen eine Übersicht über die erhobenen Resultate. Auffällige Werte werden in der Folge genauer erläutert. Dabei werden folgende international anerkannten Begriffe verwendet:

minor errors repräsentieren die Bakterienstämme, die mit der einen Testmethode als intermediär und mit der anderen Testmethode als resistent gewertet wurden.

major errors repräsentieren die Bakterienstämme, die in der Agardiffusion als resistent und in der Bouillondilution als sensibel eingestuft wurden.

very major errors repräsentieren die Bakterienstämme, die in der Agardiffusion als sensibel und in der Bouillondilution als resistent eingestuft wurden.

Diese Fälle werden als noch grösserer Fehler betrachtet, weil der Kliniker fälschlicherweise von einer Empfindlichkeit des pathogenen Erregers gegen das jeweilige Antibiotikum ausgeht.

(X/Y) X bezeichnet die Anzahl an Bakterienstämmen, die den erwähnten Fehler aufwiesen und Y die insgesamt in die Auswertung mit einbezogenen Stämme.

Evaluation der Agardiffusion

Es sind noch nicht für alle Antibiotikum-Bakterienspezies Kombinationen anerkannte Breakpoints verfügbar. Deshalb unterscheiden sich die Anzahl in die Auswertung mit einbezogener Werte (n) stark voneinander.

Tabelle 11: Die Resultate der Agardiffusion im Vergleich mit den Resultaten der Bouillondilution.

Penicillin G				
n = 159	BDil			
ADif		S	I	R
	S	58	0	1
	I	2	0	0
	R	17 ^{a)}	0	81

Ampicillin				
n = 372	BDil			
ADif		S	I	R
	S	155	16	1
	I	19	18	1
	R	26 ^{b)}	5	131

Amoxicillin + Clavulansäure				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	296	3	2
	I	9	3	2
	R	16 ^{c)}	3	103

Oxacillin				
n = 129	BDil			
ADif		S	I	R
	S	57	0	17 ^{d)}
	I	0	0	0
	R	7	0	48

Cephalothin				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	208	3	4
	I	44 ^{e)}	21	5
	R	9	7	136

Cefazolin				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	271	3	3
	I	0	3	3
	R	8	5	141

Gentamicin				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	305	19	9 ^{f)}
	I	13	3	3
	R	9	2	74

Amikacin				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	336	2	6 ^{g)}
	I	13	2	0
	R	40 ^{g)}	15	23

Chloramphenicol				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	252	17	2
	I	33	16	2
	R	2	2	111

Tetracyclin				
n = 437	BDil			
ADif		S	I	R
	S	145	0	1
	I	61 ^{h)}	6	2
	R	43 ^{h)}	14	165

Erythromycin				
n = 225	BDil			
ADif		S	I	R
	S	106	2	3
	I	26	13	0
	R	0	5	70

Clindamycin				
n = 31	BDil			
ADif		S	I	R
	S	16	0	0
	I	2	1	0
	R	0	0	12

Sulfamethoxazol-Trimethoprim				
n = 276	BDil			
ADif		S	I	R
	S	195	2	1
	I	2	1	1
	R	3	0	71

Enrofloxacin				
n = 122	BDil			
ADif		S	I	R
	S	54	1	0
	I	18	14	1
	R	1	3	30

Rifampicin				
n = 30	BDil			
ADif		S	I	R
	S	7	0	0
	I	5	1	0
	R	2	2	13

	geringfügiger Fehler (minor error)
	grosser Fehler (major error)
	sehr grosser Fehler (very major error)

- a) 17 der 159 Bakterienstämme wurden in der Agardiffusion als resistent gewertet, in der Bouillondilution hingegen als sensibel gegenüber Penicillin G. Vor allem *Staphylococcus pseudintermedius* (5/37) und koagulasenegative *Staphylococcus species* (7/65) zeigten solche major errors.
- b) Die major errors im Test gegen Ampicillin sind in erster Linie bei grampositiven Bakterienspezies geschehen. Wiederum zeigten *Staphylococcus pseudintermedius* (9/37)

und koagulasenegative *Staphylococcus* species (10/65) überdurchschnittlich viele Fehler, aber auch *Enterococcus* species zeigten über 10% major errors (4/30). Bei den gramnegativen Bakterienspecies sind fast gar keine major errors im Test gegen Ampicillin aufgetreten. Nur die Gruppe der „anderen *Enterobacteriaceae*“ als *E. coli* zeigten unter den 41 Testresultaten zwei major errors.

- c) Die 16 major errors von den 437 Testresultaten sind auf grössere Fehlerquoten bei *Staphylococcus aureus* (4/27), *Enterococcus* species (3/30) und nicht-hämolysierenden *E. coli* (5/63) zurückzuführen.
- d) Am meisten very major errors sind im Test gegen Oxacillin aufgetreten. Alle waren bei koagulasenegativen *Staphylococcus* species (17/65) geschehen.
- e) Überdurchschnittlich viele minor errors traten im Test gegen Cephalothin (44/437) auf. Die betroffenen Stämme wurden mittels Agardiffusion als intermediär, mittels Bouillondilution aber als sensibel eingestuft. Mit Abstand am häufigsten waren solche Fehler bei hämolysierenden (23/43) und nicht-hämolysierenden (16/63) *E. coli* zu finden.
- f) Resultate der Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Gentamicin zeigten neun very major errors. Sie traten einerseits gehäuft bei *Enterococcus* species (3/30) und andererseits bei *Pseudomonas aeruginosa* (5/52) auf.
- g) *Pseudomonas aeruginosa* zeigte ebenfalls fünf very major errors im Test gegen Amikacin. In zwei der fünf Fälle betraf es denselben Bakterienstamm wie im Test gegen Gentamicin. Die Empfindlichkeitsprüfung gegen Amikacin zeigte auch 40 major errors. Sie waren auf grössere Fehlerquoten bei α - (27/44) und β -hämolysierenden (10/22) *Streptococcus* species zurückzuführen.
- h) Viele minor errors (61/437) sowohl bei grampositiven als auch gramnegativen Bakterienspezies sind im Test gegen Tetracyclin aufgetreten. Isolate von hämolysierenden (17/43) und nicht-hämolysierenden (18/63) *E. coli*, von „anderen *Enterobacteriaceae*“ (8/41) sowie α -hämolysierenden *Streptococcus* species (7/44) und *Enterococcus* species (7/30) waren in der Agardiffusion intermediär und in der Bouillondilution sensibel. Neben den minor errors waren auch die major errors deutlich über dem Durchschnitt von 3.39 %. Sie traten bei denselben Bakterienspecies auf, bei welchen auch gehäuft minor errors im Test gegen Tetracyclin aufgetreten sind: hämolysierende *E. coli* (11/43), nicht-hämolysierende *E. coli* (7/63), andere *Enterobacteriaceae* (13/41), α -hämolysierende *Streptococcus* species (4/44) und *Enterococcus* species (4/30)

Im Durchschnitt ergaben sich im Vergleich der Resultate der Agardiffusion mit denjenigen der Bouillondilution eine major error-Quote von 3.39 %.

Evaluation des ATB-Tests von Biomérieux

Analog zu den Resultaten der Agardiffusion, wurden auch die Resultate des ATB-Tests von Biomérieux den Resultaten der Bouillondilution gegenübergestellt. Der ATB-Test wurde im Diagnostiklabor des Instituts für Veterinärbakteriologie Zürich im Rahmen einer Routineuntersuchung durchgeführt. Da der ATB-Test auf der Breakpointmethode basiert, entfällt die Kategorie intermediär.

Tabelle 12: Die Resultate des ATB-Tests von Biomérieux im Vergleich mit den Resultaten der Bouillondilution.

Penicillin G				
n = 112	BDil			
ATB		S	I	R
	S	26	0	0
	R	39 ^{a)}	0	47

Amoxicillin + Clavulansäure				
n = 296	BDil			
ATB		S	I	R
	S	126	1	0
	R	81 ^{b)}	7	81

Oxacillin				
n = 96	BDil			
ATB		S	I	R
	S	28	0	6 ^{c)}
	R	21 ^{c)}	0	41

Cephalothin				
n = 296	BDil			
ATB		S	I	R
	S	82	1	1
	R	91 ^{d)}	17	104

Gentamicin				
n = 296	BDil			
ATB		S	I	R
	S	76	0	1
	R	143 ^{e)}	16	60

Chloramphenicol				
n = 296	BDil			
ATB		S	I	R
	S	74	3	2
	R	115 ^{f)}	17	85

Tetracyclin				
n = 296	BDil			
ATB		S	I	R
	S	60	8	3
	R	113 ^{g)}	4	108

Erythromycin				
n = 146	BDil			
ATB		S	I	R
	S	29	0	0
	R	66 ^{h)}	10	41

Enrofloxacin				
n = 94	BDil			
ATB		S	I	R
	S	25	0	1
	R	32 ⁱ⁾	12	24

Rifampicin				
n = 16	BDil			
ATB		S	I	R
	S	2	2	1
	R	4	1	6

	geringfügiger Fehler (minor error)
	grosser Fehler (major error)
	sehr grosser Fehler (very major error)

- a) Die Empfindlichkeit gegenüber Penicillin wurde bei 39 von 112 grampositiven Bakterienstämmen mit dem ATB-Test als resistent gewertet und mit der Bouillondilution als sensibel. Die major errors traten v.a. bei *Staphylococcus pseudintermedius* (8/31), koagulasenegativen *Staphylococcus* species, sowie bei *Enterococcus* species (11/16) auf.
- b) 81 von 296 Bakterienstämmen wiesen im Test gegen Amoxicillin-Clavulansäure major errors auf. Sie waren relativ gleichmässig unter den getesteten Bakterienspezies verteilt: *Staphylococcus aureus* (7/20), *Staphylococcus pseudintermedius* (7/31), koagulasenegative *Staphylococcus* species (16/45), β -hämolyisierende *Streptococcus* species (3/18), α -hämolyisierende *Streptococcus* species (5/16), *Enterococcus* species (6/16), nicht-

- hämolisierende *E. coli* (13/42), hämolysierende *E. coli* (12/33) und andere *Enterobacteriaceae* (11/26).
- c) In der Empfindlichkeitsprüfung gegenüber Oxacillin waren neben major errors (21/96) auch vermehrt very major errors (6/96) zu finden. Die very major errors traten - wie bei der Agardiffusion - nur bei koagulasenegativen *Staphylococcus* species auf.
 - d) Die Testresultate gegenüber Cephalothin zeigten ebenfalls häufig major errors (91/296). Sie traten bei allen Bakterienspecies auf, die auch gegenüber Amoxicillin-Clavulansäure major errors zeigten. Deutlich am meisten major errors gegenüber Cephalothin zeigten jedoch die hämolysierenden *E. coli* (27/33), gefolgt von den *Staphylococcus aureus* (10/20), den α -hämolisierenden *Streptococcus* species (7/16), den nicht-hämolisierenden *E. coli* (16/42), den anderen *Enterobacteriaceae* (9/26), den β -hämolisierenden *Streptococcus* species (5/18), den koagulasenegativen *Staphylococcus* species (11/45), den *Enterococcus* species (2/16) und den *Staphylococcus pseudintermedius* (3/31).
 - e) Mit Abstand am meisten major errors wurden im Test gegen Gentamicin beobachtet (143/296). Alle Bakteriengruppen wiesen solche Abweichungen auf: hämolysierende *E. coli* (26/33), nicht-hämolisierende *E. coli* (20/42), andere *Enterobacteriaceae* (10/26), *Pseudomonas aeruginosa* (17/41), *Staphylococcus aureus* (11/20), *Staphylococcus pseudintermedius* (10/31), koagulasenegative *Staphylococcus* species (21/45), β -hämolisierende *Streptococcus* species (14/18), α -hämolisierende *Streptococcus* species (8/16) und *Enterococcus* species (4/16).
 - f) Im Resistenztest gegen Chloramphenicol waren 115 major errors bei 296 getesteten Bakterienstämmen aufgetreten. Die *Staphylococcus* species zeigten die grösste Fehlerquote, wobei auch bei den anderen Bakterienspezies häufig Abweichungen beobachtet wurden: *Staphylococcus aureus* (15/20), *Staphylococcus pseudintermedius* (15/31), koagulasenegative *Staphylococcus* species (24/45), β -hämolisierende *Streptococcus* species (4/18), α -hämolisierende *Streptococcus* species (6/16), *Enterococcus* species (9/16), hämolysierende *E. coli* (18/33), nicht-hämolisierende *E. coli* (13/42) und andere *Enterobacteriaceae* (9/26).
 - g) Die 113 major errors von ebenfalls 296 getesteten Isolaten waren ebenfalls auf Fehler bei den verschiedenen Bakterienspezies zurückzuführen: *Staphylococcus aureus* (13/20), *Staphylococcus pseudintermedius* (11/31), koagulasenegative *Staphylococcus* species (25/45), β -hämolisierende *Streptococcus* species (3/18), α -hämolisierende *Streptococcus* species (9/16), *Enterococcus* species (4/16), hämolysierende *E. coli* (15/33), nicht-hämolisierende *E. coli* (20/42) und andere *Enterobacteriaceae* (12/26).
 - h) Nur für grampositive Bakterienspezies stehen Breakpoints zur Auswertung der MHK-Werte zur Verfügung. 66 major errors waren bei 146 Testresultaten aufgetreten: *Staphylococcus aureus* (13/20), *Staphylococcus pseudintermedius* (13/31), koagulasenegative *Staphylococcus* species (26/45), β -hämolisierende *Streptococcus* species (6/18), α -hämolisierende *Streptococcus* species (6/16) und *Enterococcus* species (2/16).
 - i) Für 94 der 437 getesteten Isolate stehen Breakpoints für die Wertung der Empfindlichkeit gegen Enrofloxacin zur Verfügung. Unter den Resultaten waren 32 major errors zu verzeichnen. Die 4 *Staphylococcus aureus* Isolate wurden mit beiden Testmethoden resistent getestet, auch bei den 2 *Enterococcus* species traten keine major errors auf. Alle anderen untersuchten Bakterienspecies wiesen aber auch im Test gegen Enrofloxacin gehäuft major errors auf: *Staphylococcus pseudintermedius* (8/20),

koagulasenegative *Staphylococcus* species (9/13), β -hämolyzierende *Streptococcus* species (1/2), α -hämolyzierende *Streptococcus* species (2/4), hämolysierende *E. coli* (4/18), nicht-hämolyzierende *E. coli* (4/13), andere *Enterobacteriaceae* (2/3) und *Pseudomonas aeruginosa* (2/15).

Im Durchschnitt ergaben sich im Vergleich der Resultate des ATB-Tests mit denjenigen der Bouillondilution eine major error-Quote von 38.15 %.

2 Darstellung der Resistenzsituation von tierpathogenen Bakterien aus Proben von Zürich und Umgebung

Weil die Bouillondilution als Goldstandard gilt, werden hier nur die so ermittelten MHK-Werte dargestellt. Die Bakterienspezies, die betroffene Tierart und die entsprechende Probe bzw. Lokalisation wurden nach Möglichkeit berücksichtigt (s. dazu Tabelle 1 im Kapitel 3 Material und Methoden). Es sind nur diejenigen getesteten Wirkstoffe aufgeführt, für welche das CLSI der Tierart und den Proben entsprechende Breakpoints herausgegeben hat. Die genauen MHK-Werte, auch nicht aufgeführter Wirkstoffe, können im Anhang – MHK-Resultate nachgeschlagen werden.

2.1 Grampositive Bakterien

Zur besseren Übersicht werden in den folgenden Abschnitten die Resultate nach Gram-positiven und Gram-negativen Spezies gegliedert aufgeführt.

2.1.1 *Staphylococcus species*

Für die Auswertung der MHK-Werte von *Staphylococcus* spp. gegenüber Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1), Clindamycin und Enrofloxacin muss die Herkunft der Proben berücksichtigt werden. Das CLSI schlägt für Isolate aus dem Harntrakt, die gegenüber Sulfamethoxazol-Trimethoprim getestet werden, andere Breakpoints vor, als für Isolate anderer Herkunft.

Breakpoints für *Staphylococcus* spp. getestet gegenüber Sulfamethoxazol-Trimethoprim :

	sensibel	resistent
- Isolate aus dem Harntrakt :	$\leq 38/2 \mu\text{g/ml}$	$\geq 76/4 \mu\text{g/ml}$
- Isolate anderer Herkunft:	$\leq 9.5/0.5 \mu\text{g/ml}$	$\geq 76/4 \mu\text{g/ml}$

Die vom CLSI publizierten Breakpoints für Clindamycin sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen von Hunden anzuwenden, die für Enrofloxacin nur auf Isolate aus der Haut von Hunden und Katzen, sowie auf Isolate aus dem Respirations- und Harntrakt von Hunden. In den folgenden Grafiken sind deshalb in den Zeilen von Clindamycin und Enrofloxacin nur die auswertbaren Resultate entsprechender Isolate repräsentiert, was häufig zu kleineren Fallzahlen im Vergleich zu den anderen Wirkstoffen führt.

Staphylococcus aureus

Es wurden 27 *Staphylococcus aureus*-Isolate getestet. Davon stammen 13 aus Proben von Pferden, acht von Hunden, drei von Katzen und je einer von Schaf, Ziege und Schwein. Am häufigsten waren Resistenzen bei Erregern von **Hunden** zu verzeichnen. Alle getesteten Isolate waren gegen Penicillin resistent, sieben auch gegen Ampicillin, sechs gegen Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) und Oxacillin. Für Enrofloxacin und Clindamycin konnten nur sechs der acht Resultate ausgewertet werden, da zwei Isolate aus Gelenkspunktaten stammen, für welche das CLSI keine Breakpoints angegeben hat. Beide sind jedoch bei der höchsten getesteten Konzentration von Enrofloxacin noch gewachsen, nicht aber bei der tiefsten getesteten Konzentration von Clindamycin. Die beste Wirksamkeit zeigt Amikacin (100 %), gefolgt von Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1) (88 %) und Gentamicin, bzw. Tetracyclin (je 75 %).

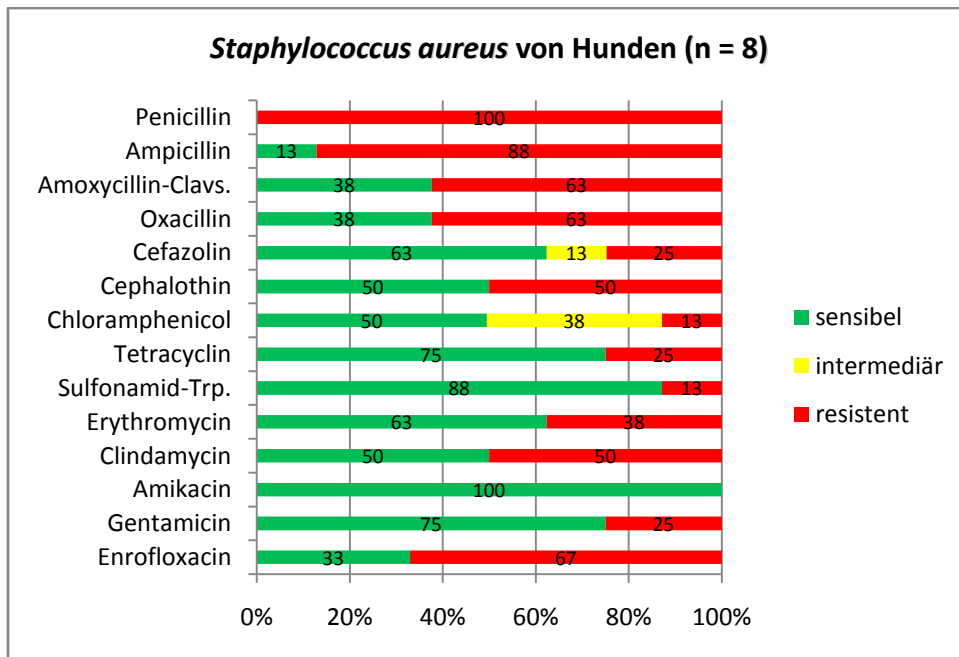


Abbildung 11: Resistenzsituation von *Staphylococcus aureus* aus Proben von Hunden

Die drei Isolate aus Proben von **Katzen** waren mehrheitlich sensibel gegenüber den getesteten Antibiotika. Ein Isolat aus einem Tracheobronchialsekret war sensibel gegen alle getesteten und auswertbaren Wirkstoffe. Ein Stamm aus einer OP-Kontrolle war gegen Penicillin, Ampicillin und Oxacillin resistent und ein weiterer aus einem Ohrtupfer zusätzlich gegen Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) und Enrofloxacin.

Auch die Isolate aus der **Pferdepraxis** waren im Durchschnitt weniger resistent als die Isolate aus Proben vom Hund. Hervorzuheben ist eine vergleichsweise grosse Wirksamkeit der Cephalosporine erster Generation, Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) und Oxacillin. Gentamicin hingegen war seltener wirksam (Pferd 54 %, Hund 75 %).

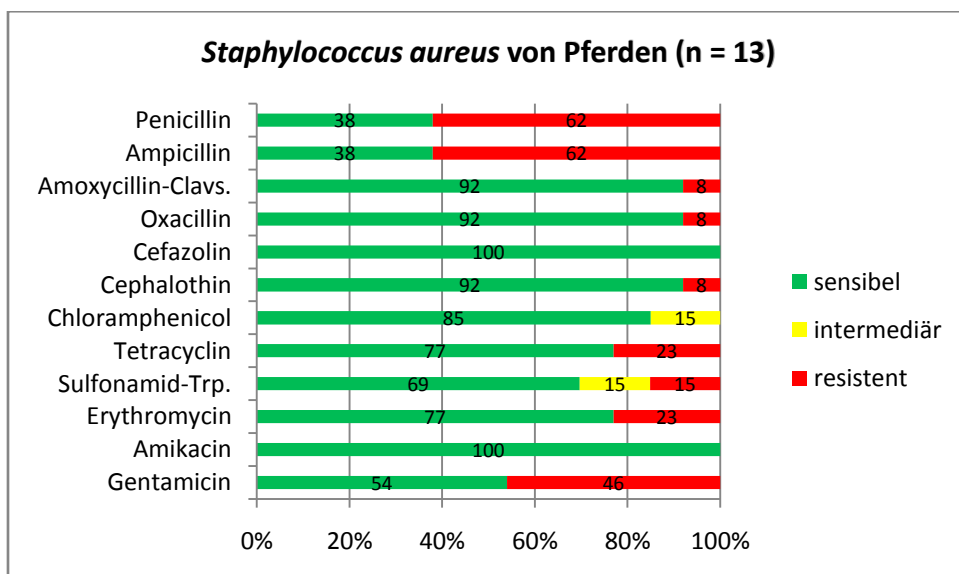


Abbildung 12: Resistenzsituation bei *Straphylococcus aureus* aus Proben von Pferden

Bei den **Nutztieren** waren zwei von drei Isolaten gegen Penicillin und Ampicillin resistent und eines gegen Tetracyclin. Gegenüber allen anderen Wirkstoffen verhielten sie sich sensibel.

Staphylococcus pseudintermedius

Es konnten 34 *Staphylococcus pseudintermedius* aus Proben von **Hunden** isoliert werden. Ein grosser Teil stammt aus Haut und Hautanhangsorganen (15), Harn (5), Gelenkspunktaten (4) und OP-Kontrollen (3). Unter den übrigen Proben finden sich Gallenpunktate, Tracheobronchialsekrete und andere unbekannter Herkunft. Im Vergleich mit *Staphylococcus aureus* sind *Staphylococcus pseudintermedius*-Isolate durchschnittlich stark resistent.

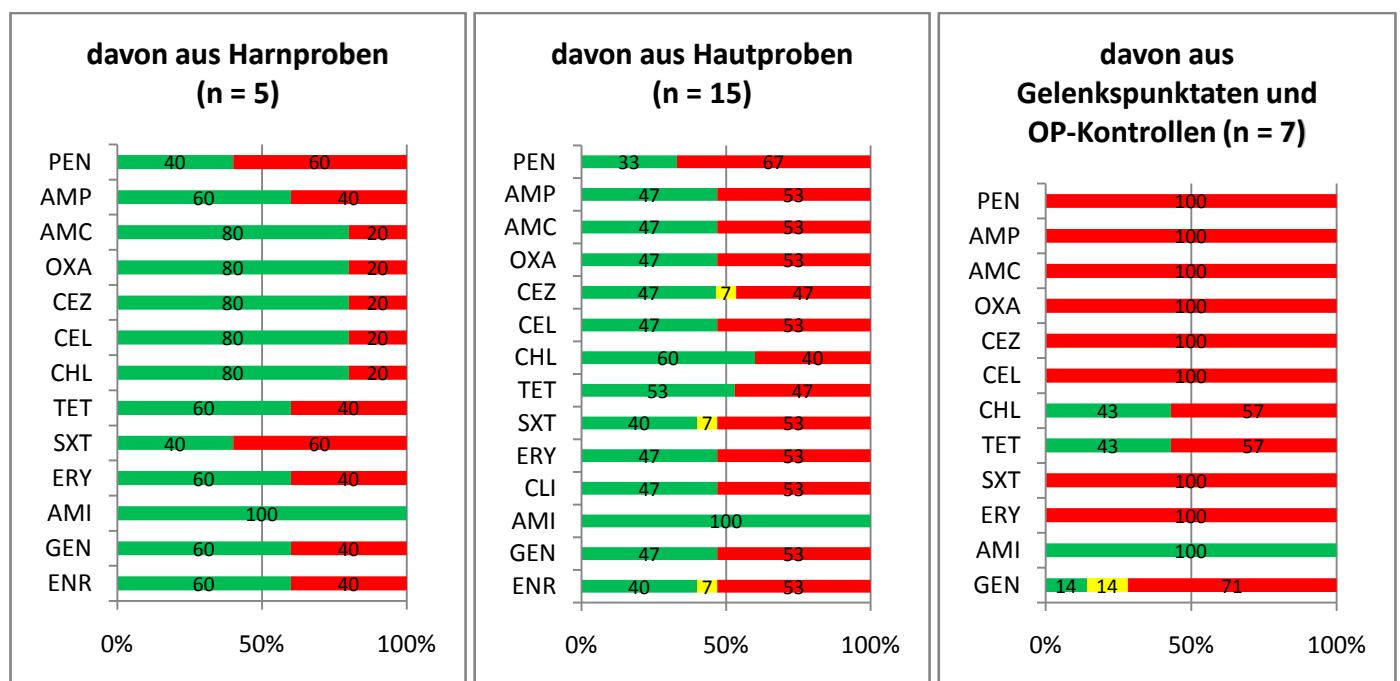
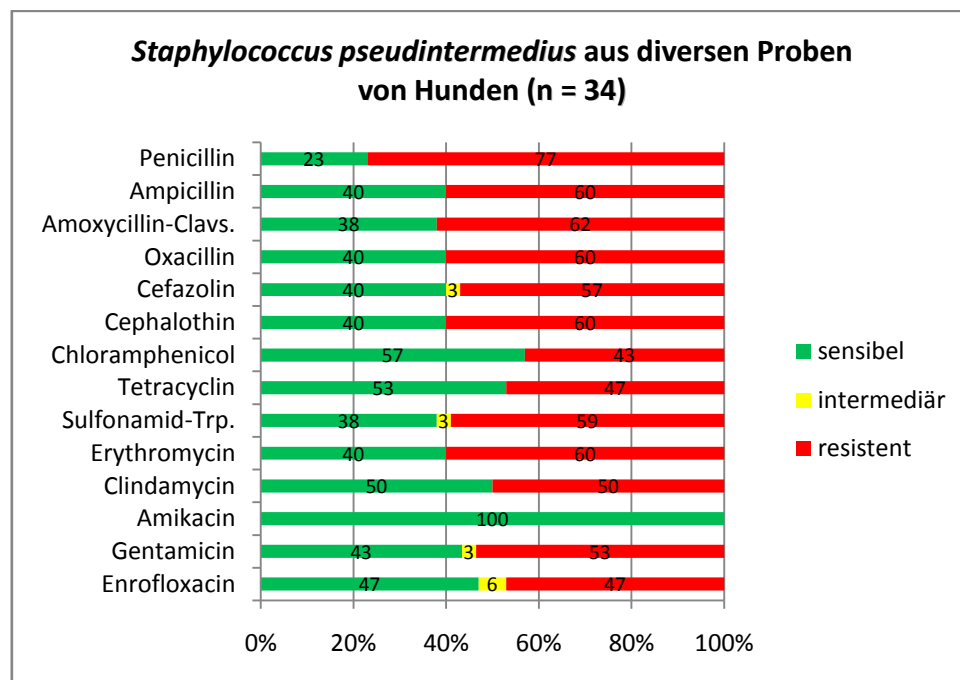


Abbildung 13: Resistenzsituation bei *Staphylococcus pseudintermedius* aus Proben von Hunden. Im oberen Teil sind alle 34 Isolate zusammengefasst. Im unteren Teil sind einzelne Gruppen daraus gesondert dargestellt.

Nur Amikacin wirkt noch bei allen Isolaten. Allerdings gibt es starke Unterschiede zwischen den einzelnen Isolaten. Zwei Stämme, die aus Ohrtupfern isoliert wurden, waren zum Beispiel gegen alle unten aufgeführten Wirkstoffe sensibel, während ein Isolat aus einem Wundtupfer gegen alle ausser Amikacin resistent war. Besorgniserregend sind vor allem auch die multiplen Resistenzen bei Erregern aus Operations-Kontrollen und Gelenkspunktaten. Selbst das bei Kleintieren häufig gut wirksame Gentamicin wirkt nur noch bei einem der sieben getesteten Stämme. Unter den fünf Erregern von Harnwegsinfektionen wiesen hingegen nur zwei multiple Resistenzen auf.

Bei der **Katze** konnte nur ein *Staphylococcus pseudintermedius* aus einer Harnprobe isoliert werden. Er war nur gegen Amikacin sensibel, gegen alle anderen resistent.

Bei den zwei Isolaten vom Rind bzw. Schaf handelt es sich laut Literatur wahrscheinlich eher um *Staphylococcus delphini* [68-70].

Koagulasenegative *Staphylococcus* species

Die Gruppe der koagulase-negativen Staphylokokken setzt sich aus 16 verschiedenen Bakterienspezies zusammen. Die Isolate stammen aus diversen Proben von verschiedenen Tierarten. Aufgrund der starken Heterogenität der 64 getesteten Stämme, ergeben sich kaum äquivalente Gruppen, die miteinander verglichen werden könnten. Abbildung 14 gibt einen Überblick, in der Folge wird auf die einzelnen Spezies genauer eingegangen.

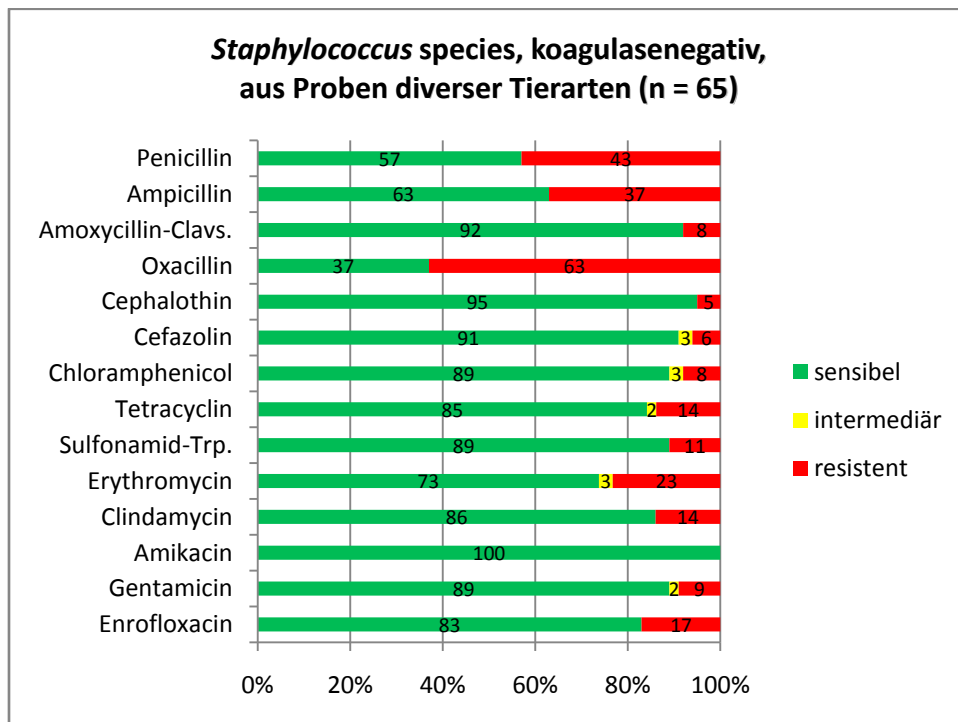


Abbildung 14: Resistenzsituation bei koagulasenegativen *Staphylococcus* species aus diversen Proben verschiedener Tierarten

Zur Auswertung der MHK-Werte gegenüber Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1), Clindamycin und Enrofloxacin mussten wiederum die Herkunft der Proben berücksichtigt

werden. Deshalb repräsentieren die Balken für Clindamycin bzw. Enrofloxacin nur 7 bzw. 18 Isolate.

Oxacillin wirkt gegen koagulasenegative *Staphylococcus* spp. im Vergleich mit anderen Spezies weniger gut als Penicillin oder Ampicillin. Während das CLSI für letztere die gleichen Breakpoints für alle Spezies zulässt, gibt es für Oxacillin deutlich tiefere Breakpoints für koagulase-negative *Staphylococcus* spp. (0.25 und 0.5 µg/ml) als für die Spezies *aureus* und *pseudintermedius* (2 und 4 µg/ml) an.

Staphylococcus epidermidis und *Staphylococcus haemolyticus*

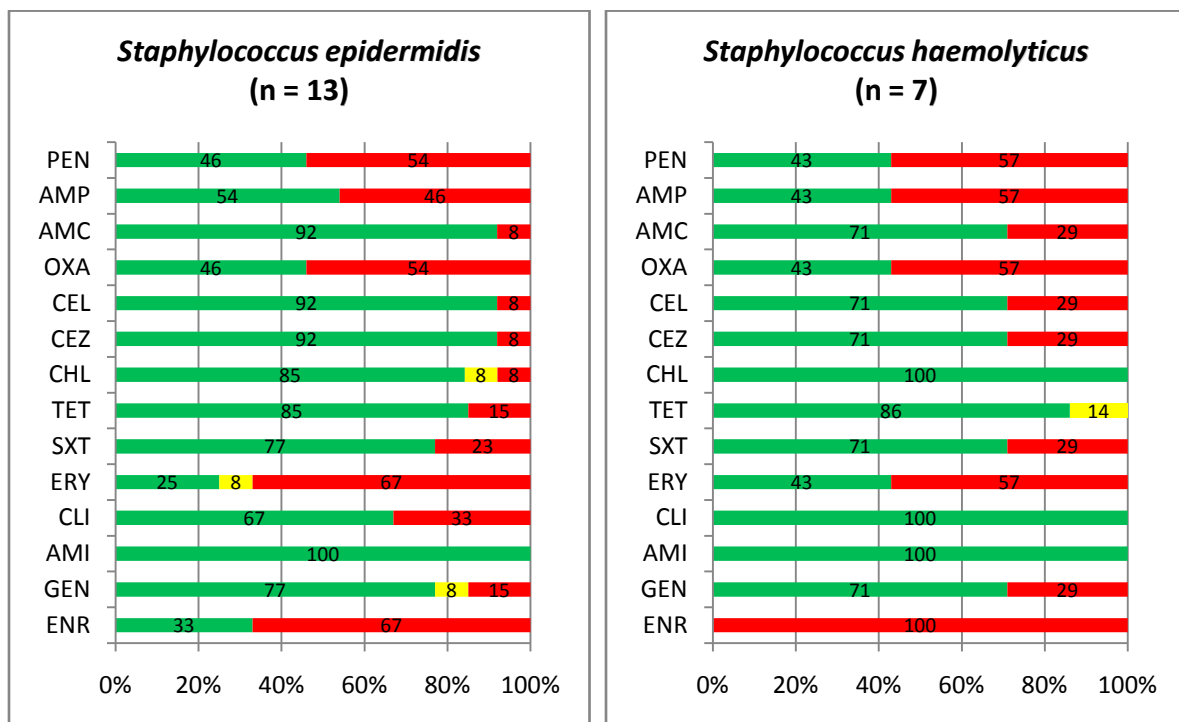


Abbildung 15: Resistenzsituation bei *Staphylococcus epidermidis* und *Staphylococcus haemolyticus* aus diversen Proben verschiedener Tierarten. (sensibel, intermediär, resistent)

Im Vergleich zu anderen koagulasenegativen *Staphylococcus* spp. verhalten sich die Spezies *epidermidis* und *haemolyticus* überdurchschnittlich resistent, insbesondere gegenüber Erythromycin und Enrofloxacin. Allerdings muss wiederum beachtet werden, dass infolge des beschränkten Geltungsbereichs der Breakpoints für Enrofloxacin und Clindamycin nur je drei (*St. epidermidis*) bzw. ein und zwei (*St. haemolyticus*) Isolate ausgewertet werden durften.

Staphylococcus felis

Bei allen sieben Isolaten aus vier Haut- und drei Harnproben von **Katzen** verhinderte die minimale getestete Konzentration aller mitgeführten Antibiotika ein sichtbares Wachstum. Es konnten keine Resistenzen festgestellt werden.

Staphylococcus hyicus

Staphylococcus hyicus kann sich gegenüber Koagulase sowohl negativ, als auch positiv verhalten. Da das Resistenzmuster aber den koagulasenegativen *Staphylococcus* species sehr ähnlich ist, wurden sie in diese Gruppe integriert.

Unter den getesteten Isolaten konnten lediglich vier Resistenzen gegen Ampicillin und Penicillin festgestellt werden. Gegenüber allen anderen Antibiotika verhielten sich alle Isolate sensibel. Die gegen Ampicillin und Penicillin resistenten Erreger wurden aus Hirn, Lunge, Leber und Milz von **Schweinen** isoliert, die gegenüber allen getesteten Wirkstoffen sensiblen Isolate stammen aus Hautgeschabseln von **Pferden** (n = 2) und dem Augenlid eines **Huhnes**.

Staphylococcus sciuri

Unter den sieben getesteten *Staphylococcus sciuri* waren zwei nur gegen Amikacin und Cephalothin sensibel. Sie wurden aus der Liquorprobe eines **Esels** und aus der Hautprobe eines **Schafes** isoliert. Von den weiteren fünf Isolaten zeigten lediglich drei eine Resistenz gegen Oxacillin. Gegenüber allen anderen antimikrobiellen Wirkstoffen waren sie sensibel.

Staphylococcus xylosus

Acht von zehn getesteten *Staphylococcus xylosus* waren resistent gegen Oxacillin, vier von zehn gegen Penicillin, Ampicillin und Tetracyclin sowie zwei gegen Chloramphenicol. Letztere zwei Resistenzen konnten nur bei den Isolaten aus Tracheobronchialsekreten von **Rindern** beobachtet werden.

2.1.2 Streptococcus species

β-hämolysierende Streptococcus species

Insgesamt wurden 22 β-hämolysierende *Streptococcus* species getestet: vier *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis*, zwei *Streptococcus equi* ssp. *equi*, ein *Streptococcus equi* ssp. *ruminatorum* und 15 *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*. Abbildung 16 soll einen Überblick über das Vorkommen der verschiedenen Resistenzen geben. Weiter eingegangen wird im Anschluss auf die Resistenzsituation der zwölf *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* von Pferden, wovon die Hälfte aus Tracheobronchialsekreten oder Luftsackproben isoliert wurden.

Allgemein treten Resistenzen gegen Tetracyclin am häufigsten auf. Auch die Wirksamkeit von Amikacin ist häufig reduziert, wobei jedoch die Minimale Hemmkonzentration noch im intermediären Bereich liegt.

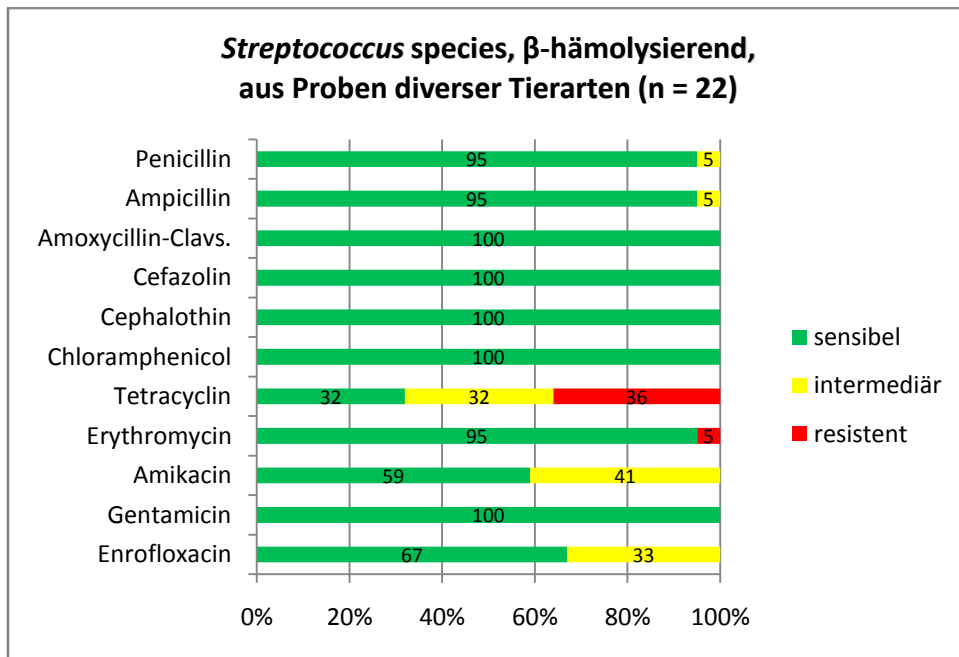


Abbildung 16: Resistenzsituation bei β -hämolsierenden *Streptococcus* species aus diversen Proben verschiedener Tierarten. (Enrofloxacin: n = 3)

Streptococcus equi ssp. *zooepidemicus*

Die aus **Pferden** isolierten *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* Stämme verhielten sich entsprechend anderer Spezies aus diversen Proben verschiedener Tierarten. Die einzige Resistenz gegen Erythromycin wurde bei *Streptococcus dysgalactiae* ssp. *equisimilis* aus Hirn, Lunge, Leber und Milz eines **Schweines** nachgewiesen.

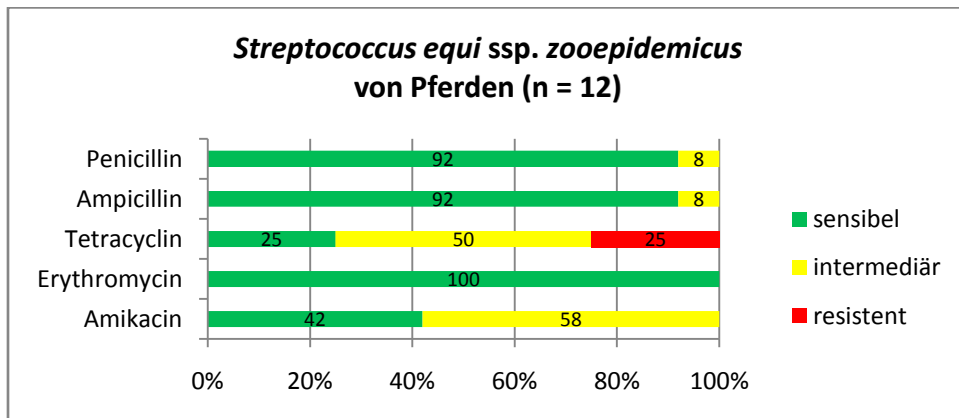


Abbildung 17: Resistenzsituation bei *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus* aus verschiedenen Proben von Pferden.

α -hämolsierende *Streptococcus* species

Analog der koagulase-negativen *Staphylococcus* species setzt sich die Gruppe der α -hämolsierenden *Streptococcus* species aus vielen verschiedenen Bakterienspezies zusammen. In der Abbildung 18 wird ein Überblick über die vorhandenen Resistenzen gegeben und

anschliessend auf die einzelnen Spezies näher eingegangen. Für die Gruppe der *Enterococcus* species hat das CLSI spezifische Grenzwerte herausgegeben, die sich zum Teil stark von denjenigen anderer α -hämolisierender *Streptococcus* spp. unterscheiden (Tabelle 13). Sie wurden deshalb gesondert ausgewertet.

Tabelle 13: Breakpoints für *Streptococcus* species und *Enterococcus* species. Erreger mit $\text{MHK} \leq \text{BP}_1$ sind sensibel, Erreger mit $\text{MHK} \geq \text{BP}_2$ resistent gegenüber dem jeweiligen Wirkstoff.

	Streptococcus spp.		Enterococcus spp.	
	BP ₁ (µg/ml)	BP ₂ (µg/ml)	BP ₁ (µg/ml)	BP ₂ (µg/ml)
Penicillin	0.125	4	8	16
Ampicillin	0.25	8	8	16
Chloramphenicol	4	16	8	32
Tetracyclin	2	8	4	16
Erythromycin	0.25	1	0.5	8

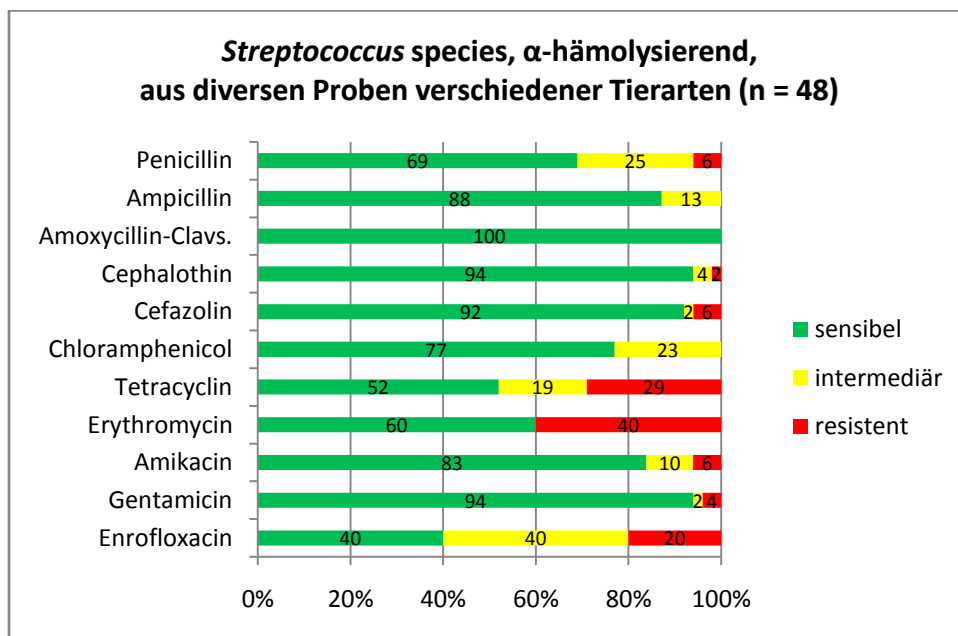


Abbildung 18: Resistenzsituation bei α -hämolisierenden *Streptococcus* species aus diversen Proben verschiedener Tierarten (inklusive *Aerococcus* spp.).

Streptococcus bovis

Von den sieben getesteten Isolaten stammen drei aus Hautproben von **Pferden**, zwei aus Tracheobronchialsekret bzw. der Lunge von **Rindern** und zwei aus Herzblut von **Zwergflusspferden**. Es konnten nur zwei Resistenzen gegen Amikacin und eine verminderte Wirkung gegen Gentamicin nachgewiesen werden. Die betroffenen Isolate stammen von je einem Rind und einem Flusspferd.

Streptococcus canis

Die getesteten Erreger wurden aus Harnproben von zwei **Hunden** und einer **Katze**, je einer Hautprobe von Hund und Katze sowie einem Bauchhöhlenpunktat eines Hundes isoliert.

Für *Streptococcus canis* gilt ein spezifischer oberer Breakpoint für Ampicillin. Im Gegensatz zu anderen α -hämolyisierenden *Streptococcus* spp. werden *Streptococcus canis*-Isolate bereits bei einer MHK von 0.5 $\mu\text{g/ml}$ anstatt 8 $\mu\text{g/ml}$ als resistent beurteilt. Es konnten dennoch nur eine Resistenz gegen Tetracyclin und verminderte Wirksamkeit gegen Tetracyclin, Chloramphenicol und Enrofloxacin nachgewiesen werden. Die Resistenz gegen Tetracyclin wurde in der Harnprobe des Hundes gefunden.

Streptococcus suis

Insgesamt konnten elf Isolate getestet werden. Davon stammen neun aus Herz, Hirn, Lunge und Leber von **Schweinen**, eines aus einer Harnprobe vom **Hund** und eines von der **Ratte**. Mit Ausnahme des Erregers aus der Ratte waren alle gegen Erythromycin resistent. Der einzige MHK-Wert von Enrofloxacin, für welchen die Breakpoints angewendet werden durften (Isolat aus der Harnprobe eines Hundes), lag mit mindestens 4 $\mu\text{g/ml}$ im resistenten Bereich. Zusätzlich zeigte sich bei der Harnprobe des Hundes eine verminderte Wirksamkeit gegen Ampicillin und Penicillin. Bei sechs Isolaten vom Schwein wurde eine reduzierte Wirksamkeit von Tetracyclin nachgewiesen. Verwendete man hingegen die spezifischen Breakpoints für die parenterale Applikation von Tetracyclin bei Schweinen mit *Streptococcus suis* Infektionen, müssten alle 9 Isolate vom Schwein als resistent bezeichnet werden.

Aerococcus viridans

Im Vergleich zu den anderen α -hämolyisierenden *Streptococcus* spp. traten bei den *Aerococcus* species häufiger Resistenzen auf. Von den 15 getesteten Isolaten stammen elf von **Schweinen**, davon je fünf aus Hirn und Gelenken und eines aus der Pleura. Drei weitere wurden aus Bauchhöhlenpunktat, Tracheobronchialsekret und Placenta von **Pferden** isoliert und eines vom **Huhn**. Am meisten Resistenzen zeigt das Isolat aus dem Bauchhöhlenpunktat des Pferdes. Es ist gegen Penicillin, Cephalothin, Cefazolin und Gentamicin resistent und zeigt gegenüber Chloramphenicol und Amikacin eine verminderte Wirksamkeit. Die anderen zwei Isolate vom Pferd sind mit Ausnahme einer verminderten Wirksamkeit gegen Amikacin gänzlich sensibel. Auffallend sind die gehäuften Resistenzen gegen Tetracyclin (zehn Isolate vom Schwein und eine vom Huhn) und Erythromycin (neun Isolate vom Schwein).

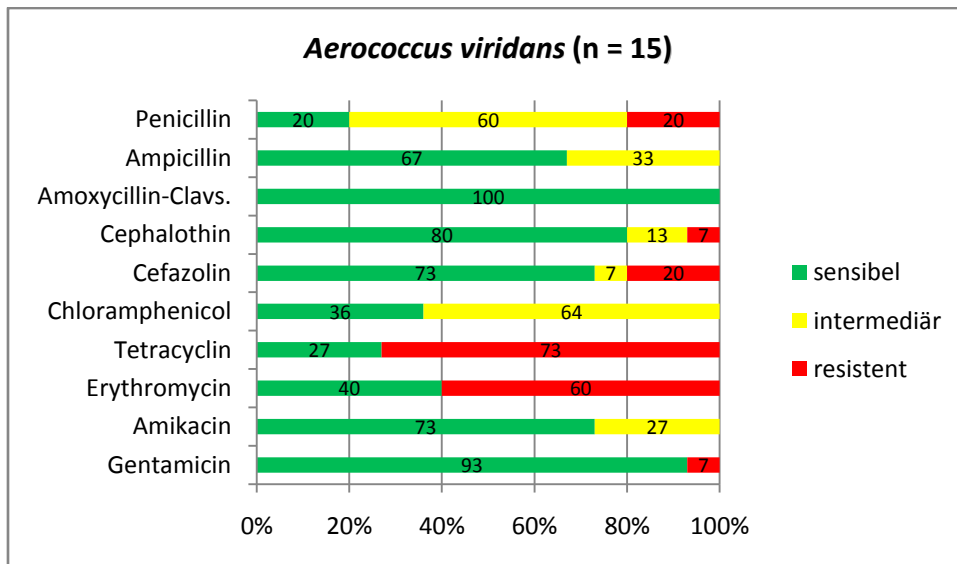


Abbildung 19: Resistenzsituation bei *Aerococcus viridans*

Enterococcus species

Neben den Spezies *E. faecalis* und *E. faecium* wurden auch *Enterococcus casseliflavus* (2), *E. durans* (1) und *E. hirae* (1) isoliert. Abbildung 20 gibt einen Überblick der Resistenzsituation bei *Enterococcus* species. Die Resistenzsituation bei *E. faecalis* und *E. faecium* wird anschliessend gesondert dargestellt.

Hervorzuheben ist, dass bei *Enterococcus* species allgemein Resistenzen gegen diverse antimikrobielle Wirkstoffe häufig aufzutreten scheinen. Von allen getesteten *Streptococcaceae* zeigen sie mit Abstand am meisten Resistenzen, gefolgt von den *Aerococcus* species.

Es scheint jedoch Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies zu geben. Während alle elf getesteten *Enterococcus faecalis* Isolate gegen Penicillin, Ampicillin und Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) sensibel waren, lagen die entsprechenden MHK von *E. faecium* bei acht (PEN), fünf (AMP) bzw. vier (AMC) von 15 Isolaten im resistenten Bereich. Umgekehrt waren Resistenzen gegen Chloramphenicol, Tetracyclin und Gentamicin bei *E. faecalis* (CHL 45%, TET 82%, AMI 91, GEN 73 %) häufiger als bei *E. faecium* (CHL 0%, TET 53%, AMI 53%, GEN 33%).

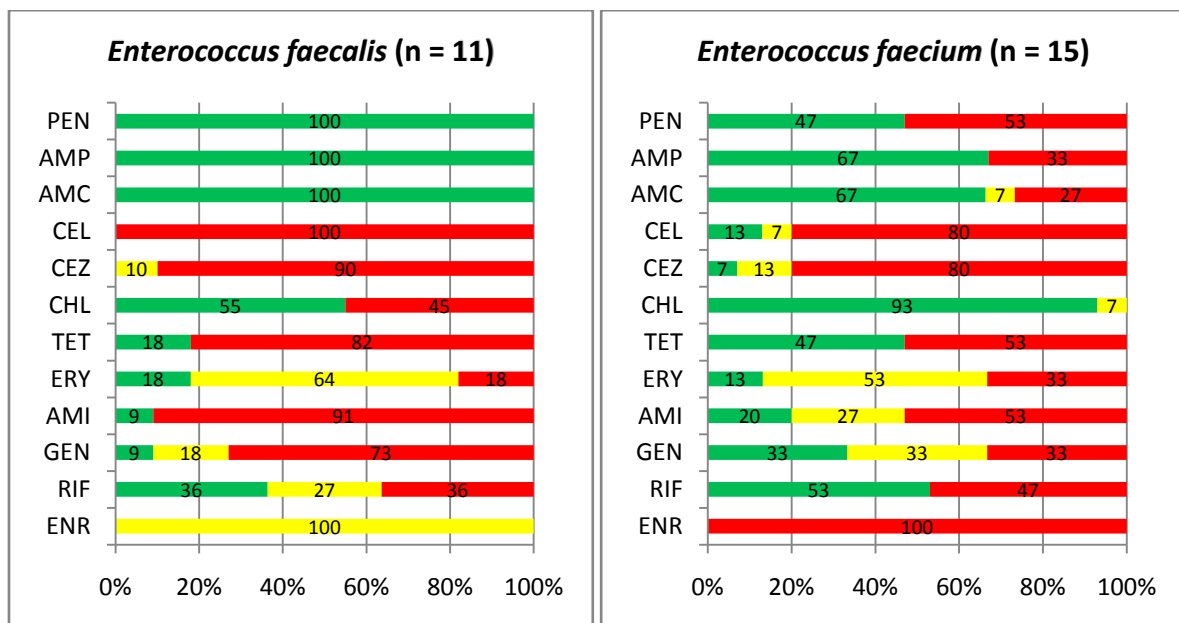
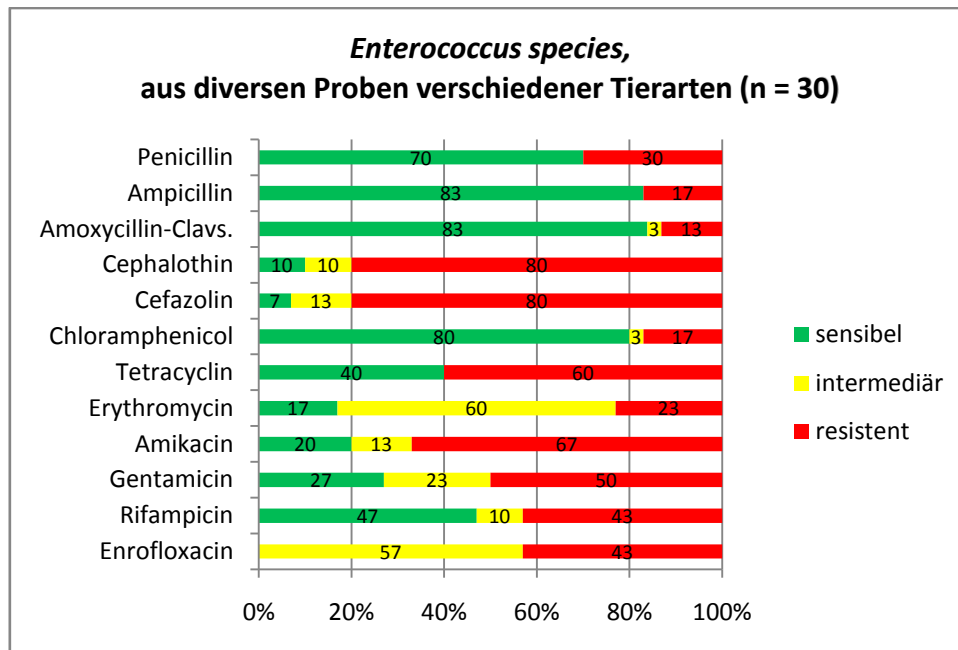


Abbildung 20: Resistenzsituation bei *Enterococcus* species aus diversen Proben verschiedener Tierarten. Im oberen Teil sind alle Spezies zusammengefasst dargestellt, im unteren Teil gesondert *E. faecalis* und *E. faecium*. (Enrofloxacin: n = 7 für *Enterococcus* spp., n = 2 für *E. faecalis*, n = 3 für *E. faecium*)

2.1.3 *Bacillus* spp.

Aus drei Tracheobronchialsekreten von **Pferden** wurde *Bacillus pumilus* isoliert. Davon war einer gegen Tetracyclin resistent, alle anderen auswertbaren MHK-Werte befanden sich im sensiblen Bereich. Auch die zwei *Bacillus subtilis* Isolate aus Harnproben von **Kleintieren** sowie ein *Bacillus* spp. unbekannter Spezies aus einer Hautprobe vom Pferd waren sensibel. Zwar gibt es für Oxacillin, Tetracyclin und Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1) keine anerkannten Breakpoints, doch die betreffenden MHK-Werte des Isolates aus der Hautprobe vom Pferd waren grösser als die höchste getestete Konzentration, während diejenigen aller anderen Isolate

kleiner/gleich der tiefsten getesteten Konzentration waren, was auf entsprechende Resistenzen hinweisen könnte. Auch die MHK-Werte von Penicillin und Ampicillin waren mindestens 16-fach erhöht.

2.2 Gramnegative Bakterien

2.2.1 Escherichia coli

Die Gruppe der getesteten *Escherichia coli* setzt sich aus Isolaten von Pferden und Harnisolaten von Hund, Katze und vereinzelt Nutztieren zusammen. In der Folge sollen hämolysierende *E. coli*, die v.a. aus Harnproben von Hunden und Katzen stammen, von nicht-hämolysierenden *E. coli* unterschieden werden.

Hämolysierende *E. coli*

Sowohl beim **Hund** als auch bei der **Katze** finden sich insgesamt nur wenige resistente Stämme. Alle getesteten hämolysierenden *E. coli* sind sensibel gegenüber Amoxicillin-Clavulansäure (2:1), Amikacin und Gentamicin. Im Gegensatz zu *E. coli* aus Katzen, waren wenige aus Hunden gegen Cephalosporine der ersten Generation resistent.

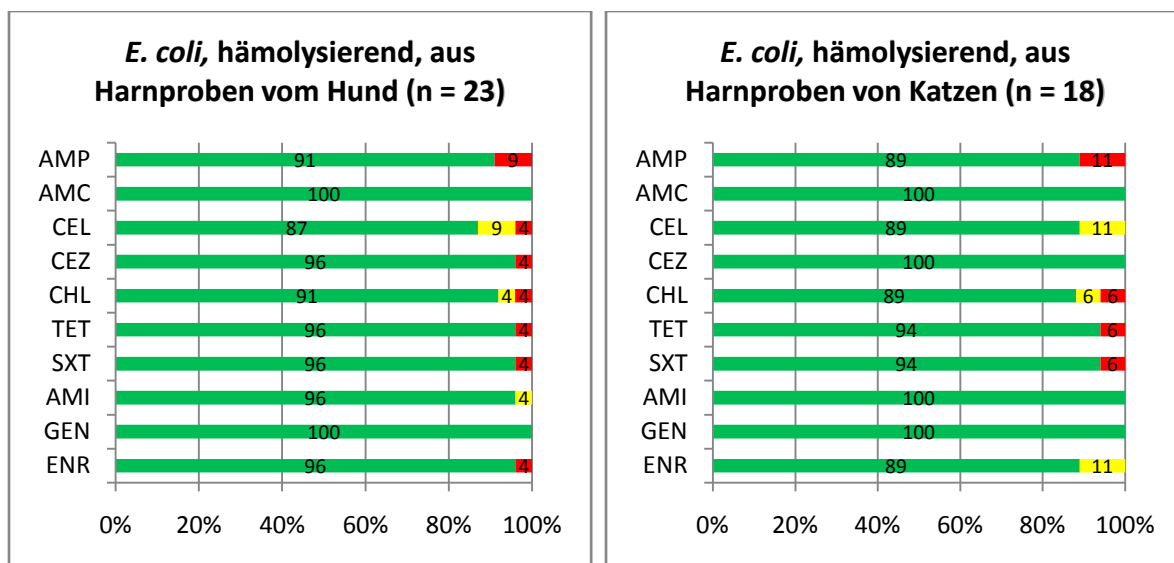


Abbildung 21: Resistenzsituation bei hämolysierenden *Escherichia coli*, isoliert aus Harnproben von Hunden bzw. Katzen (sensibel, intermediär, resistent)

Für Harnproben von Hunden sind spezifische Breakpoints für Ampicillin zu beachten. Da sich der Wirkstoff im Harn anreichert, können Harnisolate mit MHK-Werten von bis zu 8 µg/ml noch als sensibel bezeichnet werden.

Breakpoints für *Enterobacteriaceae* von Hunden getestet gegenüber Ampicillin :

	sensibel	resistent
- Isolate aus dem Harntrakt :	≤ 8 µg/ml	≥ 32 µg/ml
- Isolate anderer Herkunft:	≤ 0.25 µg/ml	≥ 1 µg/ml

Nicht-hämolysierende *E. coli*

Die nicht-hämolysierenden *E. coli* zeigten durchschnittlich häufiger Resistenzen als hämolysierende *E. coli*. Nur gegen Amikacin waren alle Isolate sensibel.

Nicht-hämolysierende Isolate aus **Katzen** (n = 19) waren häufiger resistent gegenüber Amoxicillin-Clavulansäure, Sulfamethoxazol-Trimethoprim und Enrofloxacin (AMC 37 %, SXT 27 %, ENR 47 %) als Isolate aus **Hunden** (AMC 17 %, SXT 17 %, ENR 21 %). Leichte Unterschiede sind auch bezüglich Cephalosporinen der ersten Generation und Chloramphenicol zu verzeichnen.

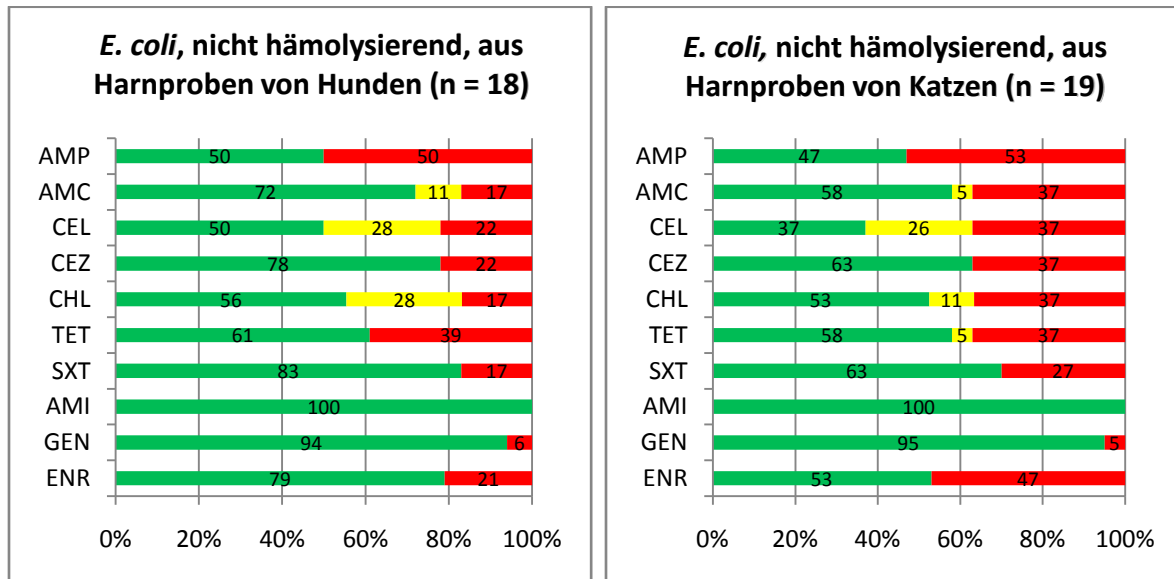


Abbildung 22: Resistenzsituation bei nicht hämolysierenden *Escherichia coli*, aus Harnproben von Hunden bzw. Katzen (sensibel, intermediär, resistent)

Beim **Pferd** sind viele *E. coli* gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (82 %), Gentamicin (77 %) und Ampicillin (82 %) resistent. Diese Beobachtung trifft auch für die aus dem Urogenitaltrakt isolierten Erreger zu. Trotz kleiner Gruppen wurden die Isolate auch untereinander verglichen: Kein *E. coli* aus Tracheobronchialsekret war resistent gegen Amoxicillin-Clavulansäure (2:1), während sieben von acht Hautisolaten resistent waren. Ansonsten verhalten sich die Stämme verschiedener Herkunft ähnlich.

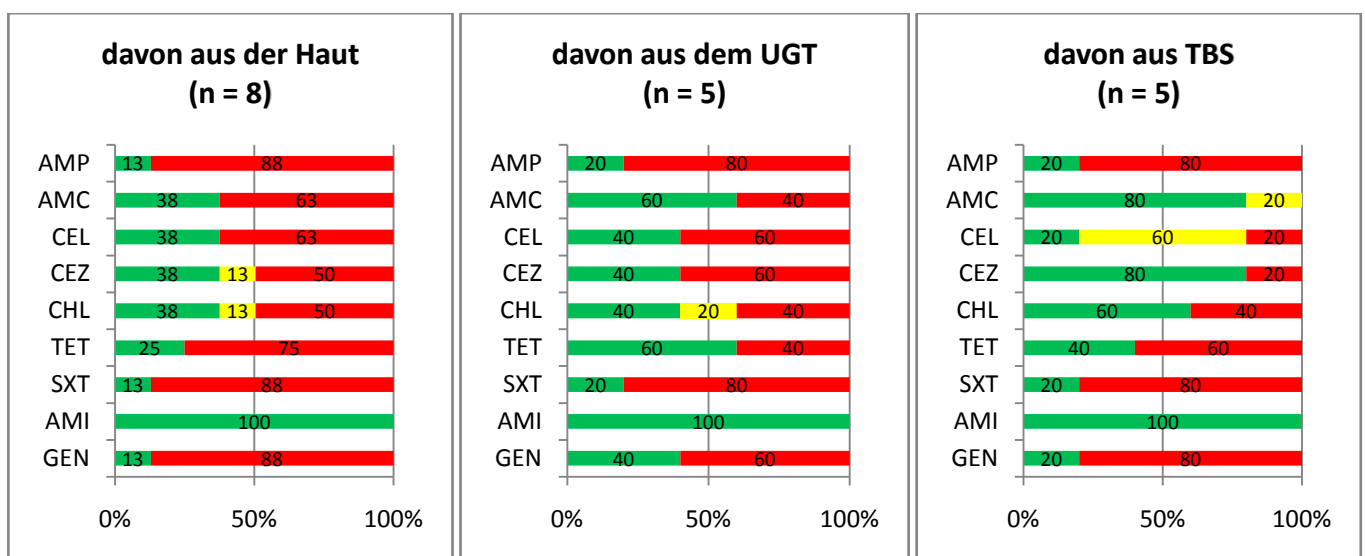
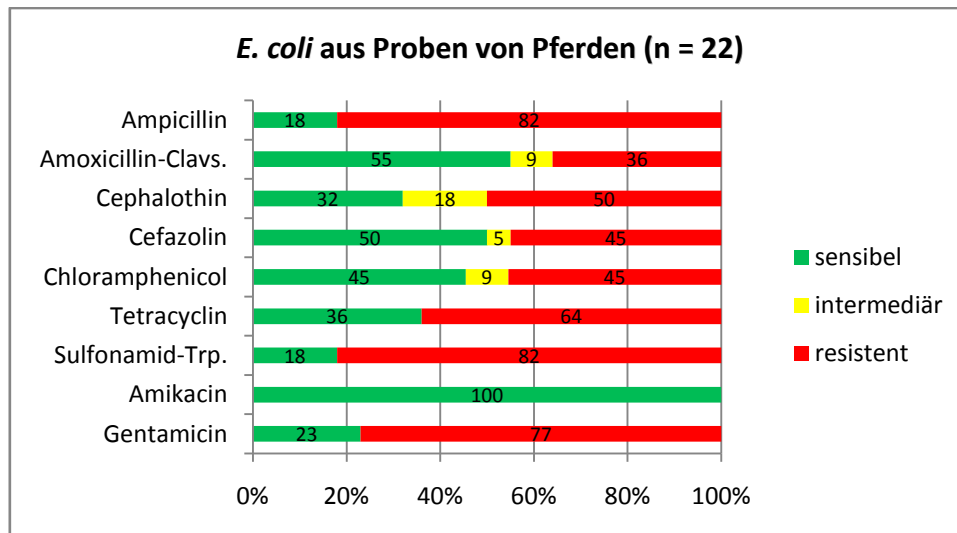


Abbildung 23: Resistenzsituation bei *Escherichia coli* von Pferden allgemein, aus der Haut, dem Urogenitaltrakt (UGT) sowie aus Tracheobronchialsekreten (TBS). Auch für die *Enterobacteriaceae* von Pferden sind vom CLSI keine Breakpoints für Enrofloxacin festgelegt worden.

2.2.2 Weitere Vertreter der Familie der Enterobacteriaceae

Abbildung 24 zeigt das Vorkommen von Resistenzen gegen die verschiedenen antibakteriellen Wirkstoffe bei anderen Vertretern der *Enterobacteriaceae* als *E. coli*. Alle getesteten Isolate (n=48) waren sensibel gegenüber Amikacin, beinahe die Hälfte jedoch resistent gegen β -Lactame, ein Drittel gegen Chloramphenicol, Tetracyclin und Enrofloxacin (n=9) sowie ein Viertel gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1) und Gentamicin. Gesamthaft am meisten Resistenzen waren bei *Enterobacter species* (n=10), gefolgt von *Klebsiella species* (n=4) und *Acinetobacter species* (n=5) zu finden. Deutlich weniger Resistenzen zeigten *Salmonella Typhimurium* (n=3), *Serratia species* (n=4), *Shigella species* (n=5) und *Proteus mirabilis* (n=3), während bei *Pantoea agglomerans* (n=6) gar keine Resistenzen zu finden waren. In der Folge wird die Resistenzsituation der einzelnen Bakterienspezies gesondert dargestellt.

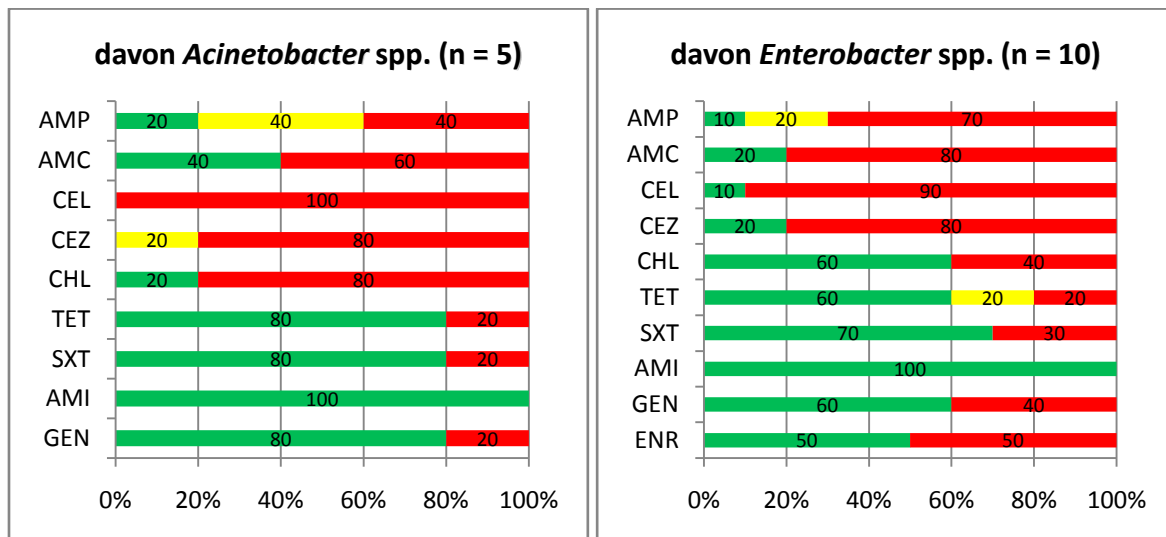
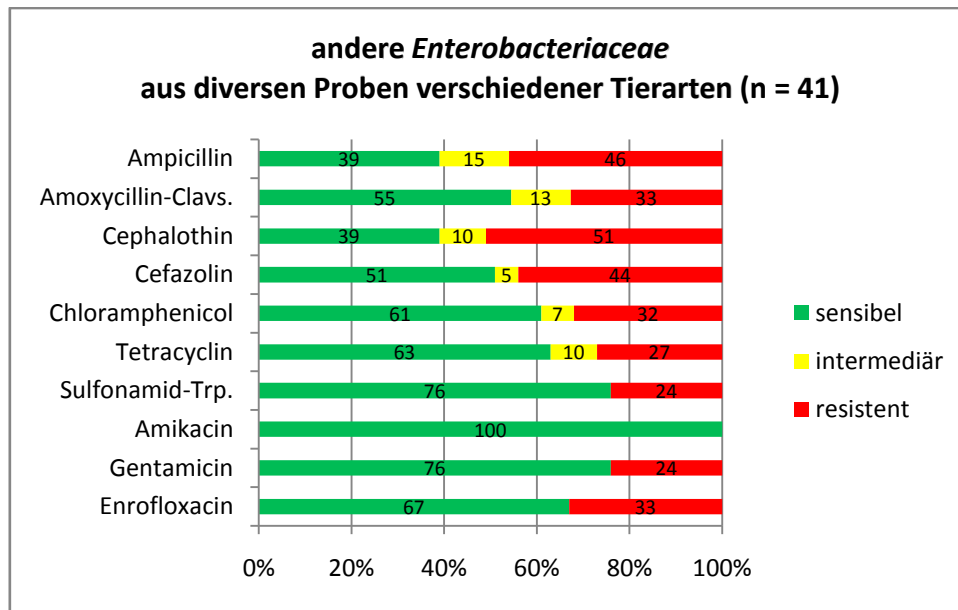


Abbildung 24: Resistenzsituation bei anderen *Enterobacteriaceae* als *E. coli* aus diversen Proben verschiedener Tierarten. (Von den *Enterobacter* spp. durften nur zwei der zehn MHK-Werte gegenüber Enrofloxacin ausgewertet werden.)

***Acinetobacter* species**

Von den fünf isolierten *Acinetobacter* spp. waren drei aus Proben von **Pferden** (*A. baumannii*), davon zwei aus Tracheobronchialsekreten und einer aus einem Abszess. Die zwei weiteren stammen aus den Harnproben einer **Katze** (*A. lwoffii*) und eines **Schweines** (*A. calcoaceticus*). Die tiefsten MHK-Werte zeigte das Isolat aus dem Katzenharn, die höchsten das Isolat aus dem Abszess eines Pferdes. Allgemein scheinen Resistenzen gegen β -Lactame und Cephalosporine häufiger zu sein als Resistenzen gegen Aminoglykoside, Tetracyclin und Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1).

Enterobacter species

Die Gruppe der *Enterobacter species* fasst die Isolate *E. cloacae*, *E. hormaechei* und *Enterobacter* unbekannter Spezies zusammen. Sieben Isolate stammen von **Pferden** (*E. cloacae* und unbekannte Spezies). Sie wurden aus vier Tracheobronchialsekreten, zwei Kotproben und einem Abort isoliert. Drei weitere Isolate stammen aus Harnproben von zwei **Hunden** und einer **Katze** (*E. cloacae* und *E. hormaechei*). Die höchsten MHK-Werte zeigen zwei *E. cloacae* aus Tracheobronchialsekreten von Pferden und ein *E. hormaechei* aus der Harnprobe eines Hundes. Sie sind gegen alle oben aufgeführten Wirkstoffe ausser Amikacin resistent.

Klebsiella species

Das Resistenzprofil der getesteten *Klebsiella species* gleicht demjenigen der oben beschriebenen *Enterobacter species*. Zwei Isolate (*K. pneumoniae*) stammen vom **Pferd**. Eines wurde aus Bauchhöhlenpunktat isoliert und verhielt sich nur gegenüber Amikacin klar sensibel. Das Zweite wurde aus Tracheobronchialsekret isoliert und zeigte zusätzlich sensible MHK-Werte für Tetracyclin und Chloramphenicol. Nur eine intermediär einzustufende Reaktion war bei einem Isolat aus der Harnprobe eines **Kleintieres** (*K. pneumoniae*) nachzuweisen. Ein weiteres Isolat aus der Harnprobe eines **Hundes** war nur gegen Ampicillin, Chloramphenicol und Enrofloxacin resistent.

Pantoea agglomerans

Alle sechs getesteten Isolate stammen von **Pferden**. Davon drei aus Tracheobronchialsekreten, je eines von einem Nasen- bzw. Wundtupfer und eines aus unbekannter Lokalisation. Drei MHK-Werte lagen im intermediären Bereich für die Cephalosporine erster Generation, alle anderen waren als sensibel zu werten.

Proteus mirabilis

Zwei Isolate wurden aus Harnproben von **Hund** und **Katze** isoliert, eine aus dem Kot eines **Pferdes**. Während erstere exakt gleiche MHK-Werte aufwiesen und nur derjenige für Tetracyclin im resistenten Bereich lag, wies das Isolat vom Pferd deutlich mehr Resistenzen auf. Es war zusätzlich gegen Ampicillin, Chloramphenicol, Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1) und Gentamicin resistent.

Salmonella Typhimurium

Alle drei Isolate stammen aus Kotproben von **Pferden**. Die Resistenzmuster unterschieden sich relativ stark. Während ein Isolat gegen alle auswertbaren Antibiotika sensibel war, verhielt sich eines nur bei Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1), Amikacin und Gentamicin entsprechend. Gegen β -Laktame, Cephalosporine, Chloramphenicol und Tetracyclin war es hingegen resistent. Das dritte Isolat verhielt sich zusätzlich sensibel gegenüber Cephalosporinen.

***Serratia* species**

Alle getesteten Isolate stammen von **Pferden**. Eine *Serratia plymuthica* konnte aus einem Tracheobronchialsekret isoliert werden. Drei *Serratia liquefaciens* stammen aus Ohr-, Uterustupfer und einer unbekannten Lokalisation. Alle verhielten sich sensibel gegenüber Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1), Gentamicin und Amikacin. Zwei zeigten eine verminderte Wirksamkeit gegenüber Tetracyclin und Chloramphenicol, eines auch gegenüber Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) und Ampicillin. Zwei waren resistent gegen Cephalosporine erster Generation und eines gegen Amoxicillin-Clavulansäure (2:1).

***Shigella* species**

Die einzige *Shigella dysenteriae* wurde aus der Harnprobe eines **Hundes** isoliert. Sie war resistent gegen Ampicillin und Tetracyclin. Eine *Shigella flexneri* stammt aus dem Tracheobronchialsekret eines **Pferdes**. Sie war nur noch gegen Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) und Amikacin sensibel. Zwei *Shigella sonnei* wurden aus Ohrtupfern von **Pferden** isoliert. Sie zeigten beide eine verminderte Wirksamkeit gegen Cephalothin, verhielten sich aber gegenüber allen anderen auswertbaren Wirkstoffen sensibel. Eine weitere *Shigella* spp., deren Spezies nicht nachgewiesen werden konnte, wurde aus dem Tracheobronchialsekret eines Pferdes isoliert. Die einzige Resistenz richtete sich gegen Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1).

2.2.3 Vertreter der Familie der Pasteurellaceae

***Actinobacillus* species**

Es konnten sechs *Actinobacillus* spp. aus Tracheobronchialsekreten von **Pferden** isoliert werden. Fünf davon gehörten der Spezies *A. equuli* an, eines der Spezies *A. rossii*. Von den acht auswertbaren antimikrobiellen Wirkstoffen lagen alle MHK-Werte im sensiblen Bereich. Für die restlichen neun Antibiotika sind keine Breakpoints zugelassen.

***Pasteurella* species**

Eine *Pasteurella multocida* wurde aus der Harnprobe eines **Hundes** isoliert. Sie zeigte keine Resistenzen. Eine *Pasteurella pneumotopica* wurde aus einer Luftsackprobe vom **Pferd** angezüchtet. Das Isolat war resistent gegen Cephalosporine erster Generation, Chloramphenicol, Tetracyclin und Amikacin und zeigte eine verminderte Wirksamkeit von Gentamicin. Von den acht auswertbaren MHK-Werten lag nur derjenige für Amoxicillin-Clavulansäure (2:1) im sensiblen Bereich.

2.2.4 *Pseudomonas aeruginosa*

Es wurden insgesamt 52 Isolate getestet. Sie wurden aus Proben verschiedener Tierarten isoliert: 29 Isolate aus **Hunden**, elf Isolate aus **Katzen**, fünf Isolate aus **Pferden**, je zwei Isolate aus **Rindern** und **Schlangen** und je 1 Isolat aus einem **Schaf**, einem **Meerschweinchen** und einem **Beutelfrosch**.

Alle getesteten *Pseudomonaden* waren resistent gegen Ampicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalothin, Cefazolin, Chloramphenicol und Sulfamethoxazol-Trimethoprim. Gegenüber Tetracyclin zeigte nur ein Isolat vom Pferd ein intermediäres Muster, alle anderen Isolate waren resistent. Sowohl bei Hund und Katze, als auch bei Pferden zeigten Amikacin (Hunde 93 %, Katzen 82 %, Pferde 60 %), gefolgt von Gentamicin (Hunde 66 %, Katzen 73 %, Pferde 40 %) die beste Wirksamkeit unter den getesteten Wirkstoffen mit veröffentlichten Breakpoints.

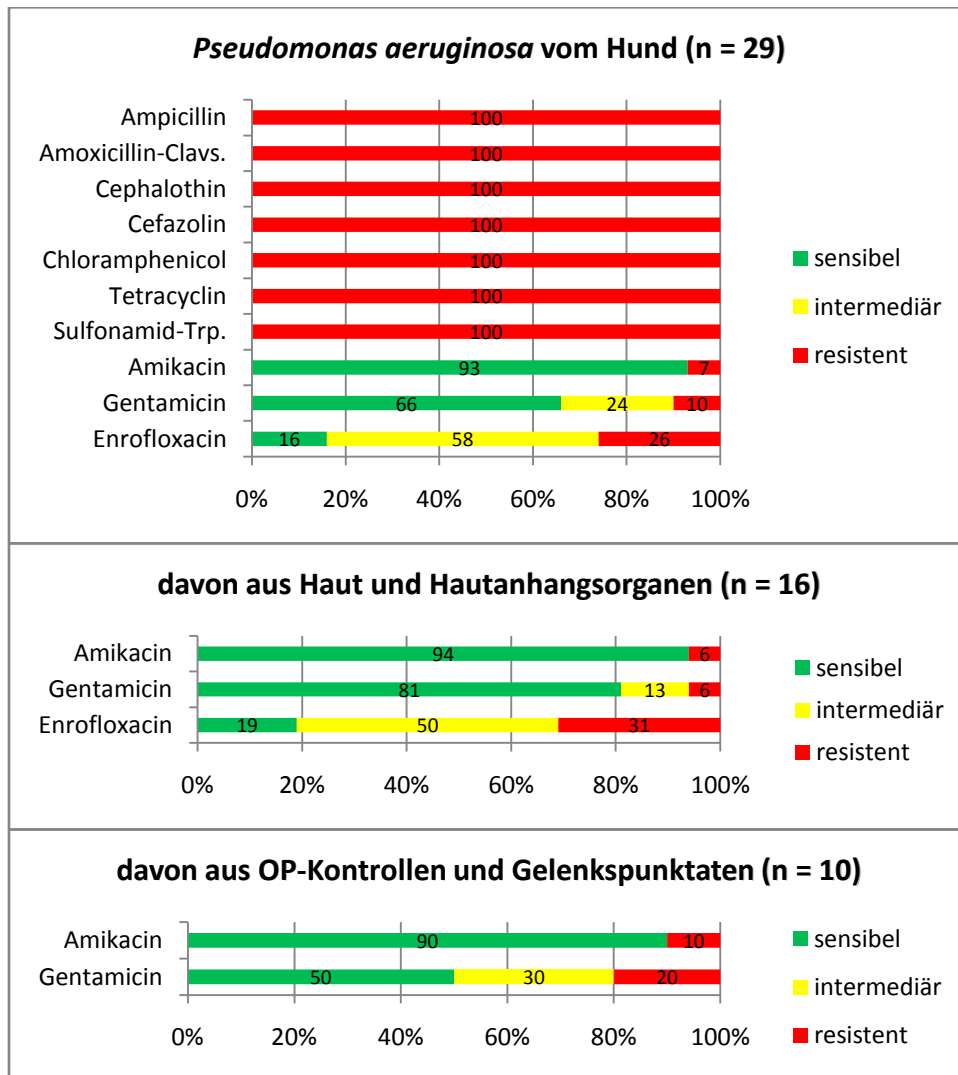


Abbildung 25: Resistenzsituation bei *Pseudomonas aeruginosa* aus Proben von Hunden

Unter den 29 getesteten Isolaten vom **Hund** waren elf von Ohrtupfern, vier aus Abszessen bzw. Wundmaterial und einer von einem Augentupfer. Diese 16 Isolate wurden als Erregergruppe der Haut und Hautanhangsorgane zusammengefasst. Die zweitgrösste Gruppe stellen die Isolate aus OP-Kontrolltupfern (7) und Gelenkpunktaten (3) dar, welche ebenfalls in einer Gruppe ausgewertet wurden. Da für Enrofloxacin nur für Proben aus der Haut, dem Respirationstrakt und dem Urogenitaltrakt anerkannte Breakpoints vorhanden sind, können die MHK-Werte dieser Gruppe nicht als sensibel oder resistent gewertet werden.

Beim Vergleich der verschiedenen Lokalisationen fällt auf, dass von den Isolaten aus OP-Kontrollen und Gelenkspunktaten häufiger Resistenzen gegenüber Gentamicin zu finden sind als bei Isolaten aus Haut und Hautanhangsorganen.

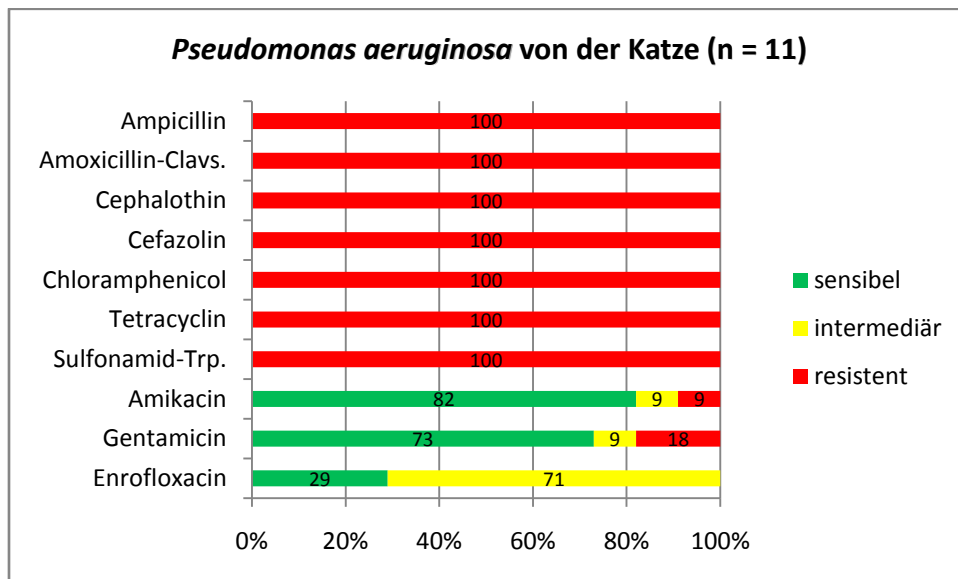


Abbildung 26: Resistenzsituation bei *Pseudomonas aeruginosa* aus Proben von Katzen

Die Erreger der **Katze** sind aus Harnproben (3), Ohrtupfern (2), Tracheobronchialsekreten (2), und OP-Kontrolltupfern (2) isoliert worden. Sie zeigen ein ähnliches Resistenzmuster wie die Isolate vom Hund. Auch die fünf Isolate vom **Pferd** zeigen ein ähnliches Resistenzverhalten. Enrofloxacin ist in Abbildung 27 nicht aufgeführt, weil für Isolate aus Pferden keine entsprechenden Breakpoints vom CLSI bestätigt wurden.

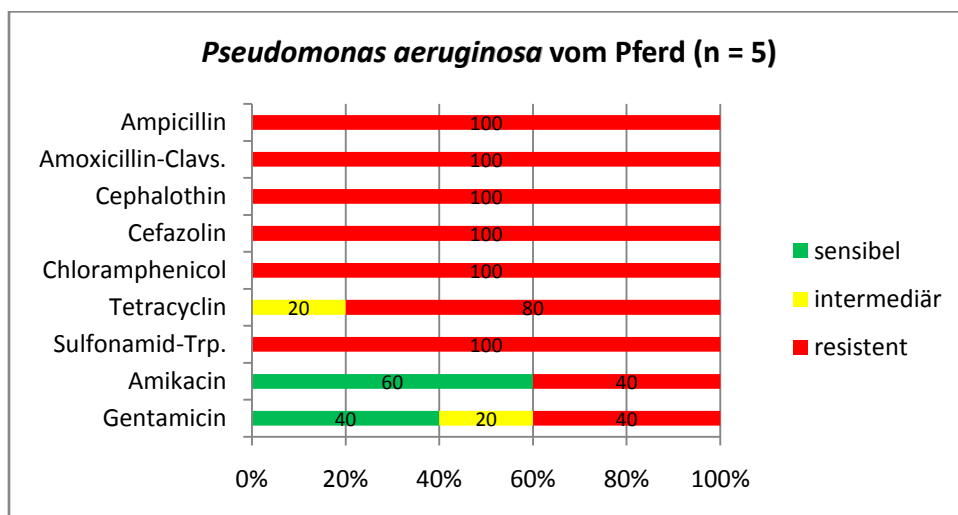


Abbildung 27: Resistenzsituation bei *Pseudomonas aeruginosa* aus Proben von Pferden.

Diskussion

1 Evaluation verschiedener Testmethoden zur Empfindlichkeitsprüfung tierpathogener Bakterien gegen Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro*

Die gezielte und gewissenhafte Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika hat mit der weiten Verbreitung multiresistenter Erreger immer mehr an Bedeutung gewonnen. Ein präzises und verlässliches Antibiotogramm muss Bestandteil jeder bakteriologischen Diagnostik sein, um die Anwendung unwirksamer Antibiotika und damit die Selektion weiterer Resistenzen möglichst zu vermeiden. Die Methoden der antimikrobiellen Resistenzprüfung müssen immer wieder überprüft und angepasst werden, um diesen Anspruch zu erfüllen. Im Rahmen dieser Dissertation wurden drei verschiedene Testmethoden geprüft und genauer evaluiert. Es wurden eine altbewährte und eine neu gestaltete Methode mit einem aktuellen kommerziellen Routinetest für die Veterinärbakteriologie verglichen.

Der ATB VET Test von Biomérieux wird seit 2006 in der Routinediagnostik des Instituts für Veterinärbakteriologie (IVB) zur Empfindlichkeitsprüfung tierpathogener Bakterien gegen Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro* verwendet. Seiner einfachen Durchführung und relativ geringen Kosten wegen eignet er sich für die Routinediagnostik. Allerdings erfüllt er nicht alle gestellten Anforderungen. Es fehlen einige am Tierspital Zürich häufig verwendete Antibiotika und Chemotherapeutika, wie Cephalosporine der 3. und 4. Generation sowie Amikacin. Andere wiederum sind im Test aufgeführt, die nicht verwendet werden und auch nicht als Leitsubstanz für verwendete Wirkstoffe dienen könnten (Pristinamycin, Fusidinsäure und Oxolinsäure). Auch die Genauigkeit des Tests verlangt nach einer besseren Lösung. Dass der ATB VET Test variable Resultate zeigen kann, ist bereits den Angaben des Herstellers für die Qualitätskontrolle zu entnehmen. Für die Referenzstämme *Escherichia coli* (ATCC 25922) und *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) wird im Test gegen verschiedene Antibiotika „R/S“ (resistent oder sensibel) angegeben. Sechs von 28 Resultaten (21.4 %) werden sowohl im sensiblen als auch im resistenten Fall als korrekt angesehen. In der vorliegenden Studie wurde die Genauigkeit durch einen Vergleich mit den mittels Bouillondilution erhobenen Resultaten evaluiert. Während very major errors kaum auftraten (0.81 %), waren major errors sehr häufig (38.15 %). In rund einem Drittel aller Fälle wurde irrtümlicherweise von einer Resistenz des Bakterienstammes gegen die getesteten antimikrobiellen Wirkstoffe ausgegangen. Antibiotika wurden so nicht angewandt, obwohl sie wahrscheinlich noch eine Bekämpfung der Infektion ermöglicht hätten. Dies ist insbesondere bei multiresistenten Keimen wie *Pseudomonas aeruginosa* oder *Enterococcus species* ein Problem. Andererseits ist die Tatsache, dass in sehr wenigen Fällen (auch im Vergleich mit der Agardiffusion) fälschlicherweise von einer Wirksamkeit eines Medikamentes ausgegangen wurde, als eher beruhigend anzusehen. Die Provokation einer weiteren Resistenzentwicklung wird so minimal gehalten.

Verlässlichere Resultate verspricht der Agardiffusionstest nach Kirby-Bauer [42]. Lange Zeit war es die massgebende Methode für die Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro*. Es sind zahlreiche Studien veröffentlicht worden, in welchen tierpathogene Erreger mittels Agardiffusionstest auf ihre Empfindlichkeit untersucht wurden [71-76]. Darunter sind Studien zu finden, die bereits 1974 das Resistenzverhalten tierpathogener Bakterien ergründeten. Diese Methode der Resistenztestung ist entsprechend gut untersucht und eignet sich als Basis für den Vergleich des aktuellen Routinetests mit einer neuen Alternative. Zudem hat das Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) spezifische

Richtlinien für die Resistenztestung von aus Tieren isolierten Bakterien herausgegeben [64]. Diese erlauben eine korrekte Auswertung erhobener Daten und stellen die Vergleichbarkeit auf internationaler Ebene sicher. Ein weiterer Vorteil der Agardiffusion ist das grosse Angebot von erschwinglichem Testmaterial auf dem Markt. Eine grosse Anzahl an antimikrobiellen Wirkstoffen ist in verschiedenen Konzentrationen erhältlich. Der Ansatz der Agardiffusion ist mit mittlerem Aufwand durchführbar, die Auswertung gestaltet sich aber als relativ zeitintensiv.

In der vorliegenden Studie hat sich schliesslich gezeigt, dass die vermeintlich einfache Durchführung doch mit einigen Schwierigkeiten verbunden ist. Die Resultate der Referenzstämmen lagen häufig ausserhalb der vom CLSI veröffentlichten Referenzwerte. Identische Probleme wurden auch von DELIGNETTE-MÜLLER et al. (1994) und HEDGES et al. (1999) beschrieben [77, 78]. Auf der Suche nach den Gründen sind v.a. zwei Faktoren aufgefallen. Eine Fehlerquelle wird in der Ablesung der Hemmhofdurchmesser vermutet. Nach Auswertung derselben Agarplatten durch zwei einheitlich instruierte Personen traten v.a. bei schlecht wachsenden Bakterienstämmen grössere Abweichungen auf. LESTARI et al. (2008) haben gezeigt, dass die Resultate durch eine automatisierte Ablesung (Oxoid aura image system) verbessert werden können [79]. Andererseits lagen mit Ausnahme eines Hemmhofdurchmessers von Spectinomycin bei *Staphylococcus aureus* alle abweichenden Resultate unterhalb der vorgegebenen Referenzwerte. Die Stämme waren resistenter als angegeben. Die Abweichungen traten bei den verschiedenen Bakterienstämmen meist gegenüber einzelnen Wirkstoffen auf. Der *E. coli*-Referenzstamm zeigte gegenüber Oxacillin, Ceftiofur, Florfenicol und Enrofloxacin konstant verkleinerte Hemmhofdurchmesser. Der *Staphylococcus aureus*-Referenzstamm zeigte gegenüber Cefquinom, Ceftiofur, Tetracyclin und Enrofloxacin verkleinerte Hemmhofdurchmesser. Die Veränderung verschiedener Parameter, wie Inkubationsdauer, Zeit zwischen dem Auftragen des Inokulums und der Testplättchen auf die Agarplatten oder der Temperatur der Agarplatten und Testplättchen beim Ansatz der Agardiffusion, hat zu keiner Korrektur der Werte geführt. Deshalb liegt die Frage nahe: Haben die Referenzstämmen eine Resistenzen gegenüber diesen Antibiotika entwickelt?

Für die Bouillondilution sind keine Referenzwerte für den *E. coli*-Referenzstamm im Test gegen Oxacillin verfügbar. Alle gemessenen MHK-Werte lagen jedoch über dem getesteten Bereich von 0.25-4 µg/ml, was für eine Resistenzentwicklung spricht. Für die weiteren abweichenden Werte kann keine entsprechende Aussage gemacht werden. Vielleicht haben unbekannte Unterschiede in den Testbedingungen oder Abweichungen in der Qualität der Testplättchen zu den fehlerhaften Resultaten geführt. Neben den externen Kontrollen, wurden auch interne Kontrollen durchgeführt. Sie widerspiegeln die Reproduzierbarkeit und geben wichtige Hinweise auf die Verlässlichkeit der Testverfahren im Hinblick auf deren Verwendung in der Routinediagnostik. Es wurden die minor und major differences zwischen zwei unabhängigen Testdurchgängen ermittelt und so Unterschiede zwischen Kombinationen von Bakterienstamm und antimikrobiellem Wirkstoff evaluiert. Es fiel auf, dass der Hemmhofdurchmesser von verschiedenen Bakterienstämmen gegenüber gewissen Wirkstoffen häufiger im intermediären Bereich lagen als gegenüber anderen. Überdurchschnittlich viele als intermediär einzustufende Hemmhofdurchmesser waren im Test gegenüber Enrofloxacin, Marbofloxacin, Ampicillin, Cephalothin, Chloramphenicol und Tetracyclin zu beobachten. Auch andere Studien zeigen im Agardiffusionstest dieser Antibiotika vermehrt Resultate im intermediären Bereich [74, 80, 81]. Bei denselben antimikrobiellen Wirkstoffen traten auch am meisten minor differences auf. Da weitaus mehr minor differences zwischen sensibler und intermediärer Einstufung und weniger zwischen intermediärer und resistenter Einstufung auftraten, kann eine entsprechende

Anpassung der Breakpoints in Erwägung gezogen werden. Gerade für den Kliniker wäre es wünschenswert, den Bereich der intermediären Einstufung möglichst eng zu halten. Da aber falsch-sensible Resultate und als Konsequenz die Anwendung nicht wirksamer Antibiotika in der Klinik zur Selektion resistenter Bakterienstämme führt, müsste eine Anpassung der Breakpoints unbedingt durch den therapeutischen Erfolg in der Klinik überprüft werden. SADER et al. haben 2006 die Breakpoints für Tetracyclin im Test gegenüber *Enterobacteriaceae* untersucht und eine Anpassung vorgeschlagen. Sie wurde vom CLSI verifiziert und in den aktuellen Standards berücksichtigt [82].

In der Literatur wurden nur selten Daten zur Qualitätskontrolle der Studien aufgeführt. BURNS et al. [83] beschreiben hingegen ähnliche Phänomene. Sie untersuchten *Pseudomonas aeruginosa* Isolate von Menschen mit zystischer Fibrose auf ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen Antibiotika. Bezüglich Reproduzierbarkeit schnitt die Agardiffusion im Vergleich zur Bouillondilution wesentlich schlechter ab. 99 Stämme wurden gegenüber 12 Antibiotika doppelt getestet. Total lagen nur 72.2 % aller Resultate innerhalb der ± 3 mm Grenze, weitere 17.1 % innerhalb von ± 6 mm und 10.7 % der Isolate zeigten über 6 mm Differenz zwischen den gemessenen Hemmhofdurchmessern der zwei Durchgänge. Von den 12 antimikrobiellen Wirkstoffen sind nur Amikacin und Gentamicin auch in der vorliegenden Studie vertreten. Es lagen 98 %, respektive 94 % der getesteten *Pseudomonas aeruginosa* Isolate innerhalb der ± 3 mm Grenze, 2 %, respektive 4 % innerhalb von ± 6 mm und 2% zeigten über 6 mm Differenz zwischen den zwei gemessenen Hemmhofdurchmessern. Im Schnitt aller getesteten Bakterienspezies und Wirkstoffe lagen aber auch nur 83.3 % innerhalb der ± 3 mm Grenze. Der Vergleich mit der Studie von Burns et al. zeigt, dass die Resultate der vorliegenden Studie zwar ernüchternd, aber dennoch als korrekt zu werten sind.

Auch die Genauigkeit des Agardiffusionstest wurde überprüft, indem die Resultate mit den parallel mittels Bouillondilution (Goldstandard) erhobenen Resultaten verglichen wurden. Wie beim ATB VET Test sind very major errors (0.93 %) viel seltener aufgetreten als major errors (3.39 %). Very major errors waren vor allem bei koagulasenegativen *Staphylococcus* species im Test gegenüber Oxacillin zu beobachten (13.2%). Am zweithäufigsten traten very major errors bei Gentamicin (2.1%) gefolgt von Amikacin (1.4%) und Erythromycin (1.3 %) auf. Auch BURNS et al. (2000) beobachteten bei den Aminoglykosiden Amikacin und Gentamicin eine besonders hohe Fehlerquote beim Vergleich der mittels Agardiffusion bzw. Bouillondilution erhobenen Resultate [83]. Eine Häufung von very major errors im Vergleich der Testresultate von koagulasenegativen *Staphylococcus* species gegenüber Oxacillin konnte jedoch in der Literatur nicht gefunden werden. Major errors traten v.a. gegenüber Penicillin G (10.7%), Tetracyclin (9.8%), Amikacin (9.1%), Ampicillin (7.0%) und Oxacillin (5.4%) auf. Die hohe Fehlerquote gegenüber Penicillin erstaunt, weil 98.1 % der Isolate in der Agardiffusion zweimal gleich gewertet wurden. Es traten gar keine minor errors und nur 1.9 % major errors auf. Demgegenüber lassen sich die Fehler im Test gegenüber Tetracyclin (14.1 % minor und 2.3 % major errors) und Ampicillin (8.0 % minor und 2.4 % major errors) mit ihrer schlechten Reproduzierbarkeit in der Agardiffusion besser nachvollziehen. Es müssten die Breakpoints für Penicillin im Agardiffusionstest neu überprüft und eventuell angepasst werden. Auch hierzu konnte keine Literatur gefunden werden. Minor errors kamen vermehrt bei Rifampicin (16.7 %), Enrofloxacin (14.7 %), Tetracyclin (14.0 %), Erythromycin (11.6 %), Cephalothin (10.1 %) Chloramphenicol (7.5 %) und Ampicillin (5.1 %) vor. Dieselben Antibiotika zeigten im doppelten Testdurchgang schon überdurchschnittlich viele minor differences: Rifampicin (16.7 %), Enrofloxacin (24.4 %), Tetracyclin (14.1 %), Erythromycin (6.6 %), Cephalothin (8.4 %)

Chloramphenicol (8.7 %) und Ampicillin (8.0 %). Alle diese minor errors kamen durch eine intermediäre Einstufung in der Agardiffusion und einer sensiblen Wertung in der Bouillondilution zustande. Andere minor errors kamen nur vereinzelt vor. Wahrscheinlich könnten auch diese Werte durch eine entsprechende Anpassung der Breakpoints in der Agardiffusion verbessert werden. LYNCH et al. haben schon 1986 ebenfalls grössere Fehlerquoten im Test gegenüber Penicillin, Aminoglykosiden, Polymyxin und Tetracyclin festgestellt [84]. Offensichtlich eignen sich diese Wirkstoffe weniger für eine Empfindlichkeitsprüfung mittels Agardiffusion als andere.

Bessere Resultate in der Resistenzprüfung gegenüber diesen und anderen Wirkstoffen konnten mittels Bouillondilution erhoben werden. Die Empfindlichkeitsprüfung mittels Bouillondilutionstest hat in den vergangenen Jahren immer mehr an Bedeutung gewonnen. In der Wissenschaft hat sich diese Methode als Goldstandard durchgesetzt. Auch in der Diagnostik findet sie immer mehr Verwendung. Ringversuche wurden durchgeführt, um die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit des Bouillondilutionstests zu erfassen und die Standards des CLSI zu überprüfen [85, 86]. Die verfügbaren Daten zur Empfindlichkeit tierpathogener Bakterien gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro* hat in den vergangenen Jahren stark zugenommen. Das Bundesamt für Veterinärwesen verfolgt in Zusammenarbeit mit dem ZOBA der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern ein Antibiotikaresistenzmonitoring [36]. Besonderes Augenmerk wurde dabei auf Zoonoseerreger wie *Campylobacter species* und *Salmonella species* sowie die Indikatorkeime *Escherichia coli* und *Enterococcus species* gelegt. In Deutschland erschien 2008 ein Bericht über die Resistenzsituation in der Human- und Veterinärmedizin der vergangenen Jahre [87]. Analoge Studien wurden auch in Dänemark, Holland und Schweden durchgeführt. Alle Studien basieren auf Resultaten, die mittels Bouillondilution erhoben wurden. Umfassende Resistenzdaten von pathogenen Bakterien bei Heimtieren sind in der Schweiz noch nicht veröffentlicht worden. Da jedoch auch Hund, Katze, Pferd und andere Haustiere eine potentielle Infektionsquelle für den Menschen darstellen, müssen sie in die Untersuchungen mit einbezogen werden. LLOYD (2007) unterstreicht in seiner Publikation die Bedeutung unserer Haustiere als Reservoir von resistenten Bakterienpopulationen, insbesondere bei *Staphylococcus intermedius* (heute: *St. pseudintermedius*), *Escherichia coli* und methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* [88].

Die vorliegende Studie gibt einen Einblick in die Resistenzsituation bei *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*-Isolaten aus Harnproben, *Staphylococcus pseudintermedius* und *Staphylococcus aureus* von Patienten des Tierspitals Zürich und Umgebung. Weitere Bakterienspezies sind aufgeführt, der geringen Fallzahl wegen aber nicht als repräsentativ zu werten.

Anders als bei der Agardiffusion, bei welcher der Hemmhofdurchmesser einen Hinweis auf die minimale Hemmkonzentration eines antimikrobiellen Wirkstoffes gegenüber einem Bakterienstamm gibt, wird diese beim Bouillondilutionstest direkt abgelesen. Es ist deshalb neben der qualitativen auch eine direkte quantitative Beurteilung möglich. Das Wissen um den genauen MHK-Wert eines bakteriellen Krankheitserregers gibt dem behandelnden Kliniker mehr Handlungsspielraum. Es ist z. B. aufgefallen, dass verschiedene Bakterienstämme im Test gegen gewisse Antibiotika gehäuft MHK-Werte im intermediären Bereich zeigen (s. oben). Unter Berücksichtigung der genauen Lokalisation und Intensität der Infektion, eventueller Begleiterkrankungen des betroffenen Tieres sowie der galenischen Form und Applikation des antimikrobiellen Wirkstoffes kann deren Anwendung dennoch in Frage kommen [89]. Zusätzlich

ermöglichen quantitative Daten eine genauere Erfassung der Resistenzentwicklung. Werden Veränderungen der MHK über eine gewisse Zeitspanne beobachtet, können Tendenzen der Resistenzentwicklung frühzeitig erkannt werden [90].

Noch sind die Kosten für die Herstellung von spezifischen Mikrotiterplatten in kleinen Chargen relativ hoch. Es wurden deshalb Layouts für verschiedene Erregergruppen erarbeitet, die in grösserer Menge hergestellt und anschliessend von verschiedenen Labors verwendet werden. Die Firma TREK Diagnostic Systems erarbeitete verschiedene Sensititer®-Platten, die für tierpathogene Bakterien aus Proben bezeichneter Herkunft geeignet sind: Companion/equine isolate MIC, Urinary isolate MIC, Mastitis isolate MIC, bovine/porcine with Tulathromycin MIC, Avian isolate MIC, oder aber für eine gewisse Erregerart entwickelt wurden: Campylobacter MIC. Die Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft erarbeitete je ein Layout für Mastitis-Erreger [66], eines für pathogene Bakterien von Grosstieren [66] und eines für entsprechende Erreger von Kleintieren [67]. Die so gefertigten Mikrotiterplatten bieten den Vorteil, dass sie eine Art Mini-MHK-Studie ermöglichen. Es werden mehr Konzentrationsstufen als bei einer Breakpointstudie getestet, was gewisse quantitative Aussagen ermöglicht. Gleichzeitig aber ist die Anzahl Verdünnungsstufen auf ein Minimum reduziert, damit auf einer 96-Lochplatte mehrere verschiedene Antibiotika und Chemotherapeutika parallel getestet werden können. Für die Gestaltung einer eigenen Mikrotiterplatte mussten neben den zu testenden Wirkstoffen deren Konzentrationsstufen festgelegt werden. Um die Resultate sinnvoll auswerten zu können, wurden die Breakpoints nach CLSI (Anhang, Tabellen 8-10) für die verschiedenen zu testenden Bakterienspezies berücksichtigt. Zusätzlich gab das Paper von CANTON et al., welches 2007 im Journal „Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica“ erschien [91], wertvolle Hinweise auf zu testende Konzentrationsbereiche für *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus species* und *Enterococcus species*.

Die vorliegende Studie hat deutlich gezeigt, dass sich die Durchführung im Vergleich zum Agardiffusionstest einfach und zeitsparend gestaltet. Wartezeiten, die bei der Agardiffusion zum Beispiel für das Antrocknen der imprägnierten Platten benötigt werden, entfallen. Auch das Ablesen der Resultate war wesentlich einfacher und schneller als bei der Agardiffusion. Sichtbares Wachstum kann auf die mitgelieferten Auswertungsblätter übertragen und mit der angefertigten Schablone die MHK-Werte abgelesen werden. Nur bei anspruchsvollen Bakterien war ein Wachstum zum Teil schlecht sichtbar. Eine gute Lichtquelle ist deshalb unbedingt erforderlich, um falsch sensible Resultate zu vermeiden. Wenn verschiedene Personen denselben Bouillondilutionstest auswerteten, waren die Resultate im Gegensatz zum Agaridiffusionstest in der Regel identisch. Für korrekt auswertbare Resultate waren die Homogenität der Suspension und die exakte Einstellung der Inokulum-Konzentration mittels Photometrie besonders wichtig. Schwierigkeiten bereiteten vor allem *Corynebacterium species*, weil sich die Kolonien im Medium sehr schlecht lösen. Es wurden Untersuchungen eingeleitet, die den Zusatz verschiedener Stoffe für eine bessere Löslichkeit und ihren Einfluss auf die Empfindlichkeitsprüfung testen.

Die Reproduzierbarkeit des Bouillondilutionstests war sehr gut. Von den regelmässig mitgeführten Referenzstämmen lagen die Resultate meistens im Bereich der vom CLSI veröffentlichten Referenzwerte. *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa* lagen in jedem Testdurchgang mit allen Werten im Referenzbereich. Wenige Abweichungen waren bei *Staphylococcus aureus* (3.6 %), *Enterococcus faecalis* (6.9 %) und *Streptococcus pneumoniae*

(6.7 %) zu verzeichnen. Im Vergleich dazu lagen bei einem Ringversuch in Deutschland 7.8 % der Resultate von *Staphylococcus aureus* ausserhalb der Toleranzgrenze [86]. Neben dem Referenzstamm wurden 4 Feldstämme in den verschiedenen Labors untersucht. Die Übereinstimmung der Resultate betrug mit einer Toleranz von einer Abweichung von einer Verdünnungsstufe (1:2 bzw. 2:1) 87,7 %. WALLMANN et al. (2006) konnten keine grossen Unterschiede zwischen Labors, die MHK-Tests routinemässig durchführen und solchen, die sich neu damit auseinandersetzten feststellen. Die Übereinstimmung betrug bei erfahrenen Labors 89.3 % und bei unerfahrenen 86.7 % [86]. In der vorliegenden Studie wurden im Vergleich der zwei unabhängigen Testdurchgänge 95.6 % Übereinstimmung erzielt. Aufgefallen ist dabei, dass auch in der Bouillondilution gewisse antimikrobielle Wirkstoffe deutlich mehr Abweichungen zeigen als andere. Schwierigkeiten bereiteten vor allem die Aminoglykoside Gentamicin (91.4 %) und Amikacin (93.0 %), Tetracyclin (92.0 %) und Enrofloxacin (92.7 % Übereinstimmung). Es handelt sich dabei um dieselben Wirkstoffklassen, die auch in der Agardiffusion Schwierigkeiten bereiteten. in der Ringstudie in Deutschland waren ebenfalls bei einigen Wirkstoffen deutlich mehr Probleme aufgetreten als bei anderen. Schlechte Kongruenz zwischen den Resultaten waren im Test gegen Ceftiofur (72.2 %), Penicillin G (79.2 %), Cefoperazon (79.4 %) und Avilamycin (80.4 % Übereinstimmung) aufgetreten. Weil die Auswahl der antimikrobiellen Wirkstoffe in der vorliegenden Studie und derjenigen von WALLMANN et al. (2006) sehr unterschiedlich sind, können die Werte nicht direkt miteinander verglichen werden. Auch die getesteten Bakterienspezies unterscheiden sich von Studie zu Studie. Im Ringversuch zeigten *Streptococcus uberis* (79.6 %), gefolgt von *Streptococcus agalactiae* (82.6 %) und *Pasteurella multocida* (86.0 %) die schlechtesten Resultate. Am meisten Übereinstimmung zeigten *Escherichia coli* (96.7 %) und der Referenzstamm *Staphylococcus aureus* (92.8 %). In der vorliegenden Studie wichen die Resultate der α -hämolisierenden *Streptococcus* species (88.4 %) mit Abstand am häufigsten voneinander ab. Die β -hämolisierenden *Streptococcus* species zeigten mit 94.2 % Kongruenz das zweitschlechteste Resultat. Wie bei WALLMANN et al. (2006) waren die Resultate von *Escherichia coli* (97.4 %) sehr gut zu reproduzieren. Noch besser war die Gruppe der „anderen *Enterobacteriaceae*“ mit 98.0 %, die *Pasteurellaceae* mit 97.9 % und die *Enterococcus* species mit 97.8 % Übereinstimmung der Resultate von zwei unabhängigen Testdurchgängen.

Da diese Testmethode dem aktuellen Goldstandard entspricht, kann die Genauigkeit nur anhand eines Vergleichs der Resultate mit dem entsprechenden Erfolg oder Misserfolg einer antibiotischen Behandlung in der Klinik ermittelt werden. Entsprechende Studien setzen ein grosses Engagement und enge Zusammenarbeit der Institute voraus. Sie sind sehr aufwändig, aber unabdingbar für die weitere Verbesserung der Empfindlichkeitsprüfung von Bakterien gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro*.

2 Resistenzsituation bei tierpathogenen Bakterien in Zürich und Umgebung

Resistenzen kommen bei fast allen Bakterienspezies vor und bei einzelnen ist es sogar schwierig bis unmöglich, ein wirksames Antibiotikum zu finden. Die Kenntnis der Resistenzprofile von Krankheitserregern bei zu behandelnden Patienten ist besonders wichtig, weil die Applikation von antibiotischen Wirkstoffen, gegen welche der Erreger bereits eine Resistenz gebildet hat, unbedingt vermieden werden muss. Die Gegenwart solch unwirksamer Antibiotika bedeutet für die pathogene resistente Bakterienspezies einen Standortvorteil und erleichtert ihr so die Vermehrung im Patienten. Es wird nicht nur dem Tier erheblicher Schaden zugefügt, sondern auch die Selektion resistenter Bakterienpopulationen weiter gefördert. Im Gegenzug liegt die Vermutung nahe, dass Bakterien ihre Resistenzeigenschaften auch wieder verlieren können. Eigenschaften, die nicht zu einem Standortvorteil führen und für das Überleben sowie für die Vermehrung der Erreger überflüssig sind, werden im Laufe der weiteren Evolution wieder verloren gehen. GRIFFITHS et al. (1990) konnten durch Langzeitstudien an *Escherichia coli* und *Pseudomonas fluorescens* diese These bestätigen [92].

Aufgrund dieser Beobachtungen werden in der Humanmedizin die Resistenzdaten von verschiedenen diagnostisch tätigen Laboratorien in der Datenbank SEARCH (Sentinel Surveillance of Antibiotic Resistance in Switzerland) [93] zusammengeführt. Es werden so Daten von 60% der Spitaltage und 30% der Behandlungstage in Schweizer Arztpraxen gesammelt. Diese Daten können wiederum über spezifische Suchkriterien durch den behandelnden Kliniker abgerufen werden und erlauben ihm, die Resistenzlage der gewählten Erregergruppe abzuschätzen und ein geeignetes Medikament für eine erfolgreiche Bekämpfung der Infektion zu wählen. Neben der Bakterienspezies können weitere Kriterien wie die Patientengruppe oder die Art der Probe bzw. Lokalisation der Infektion im Patienten angegeben werden. Dies ermöglicht eine umfassende Einschätzung der Situation. Für eine vollständige Überwachung der Resistenzsituation in der Schweiz wird gleichzeitig der Konsum an antimikrobiellen Wirkstoffen erfasst. Eventuelle Zusammenhänge können so frühzeitig erkannt und entsprechende Massnahmen ergriffen werden. Ein Anschluss der Veterinärmedizin an das nationale Überwachungssystem muss angestrebt werden. Gemeinsame Problemkreise könnten besser erkannt werden. Erreger mit zoonotischem Potential würden früher entdeckt und könnten gezielter bekämpft werden.

Bisher sind keine umfassenden Zahlen zur Prävalenz der einzelnen Resistenzen bei tierpathogenen Erregern der Region erhoben worden. Die vorliegende Studie erfasst die Resistenzprofile von gegen 500 Bakterienstämmen. Aufgrund vorgängiger Projekte hat eine gewisse Vorselektion der konservierten Stämme stattgefunden. Es kann deshalb kein Rückschluss auf die Häufigkeit bzw. das Vorkommen der einzelnen Erregerspezies geschlossen werden. Verteilt auf die einzelnen Bakterienspezies ergaben sich Fallzahlen von n=1 bis n=63. Für eine präzise Einschätzung der Situation müssen aber neben der Bakterienspezies auch die Patientenspezies und die Lokalisation der Infektion im Patienten miteinbezogen werden. Die grösste einheitliche Gruppe bilden 23 hämolysierende *Escherichia coli*-Isolate aus Harnproben von Hunden. THORNSBERRY et al. (1980) setzten für eine korrekte Auswertung der MHK-Daten eine Anzahl von mindestens 300 getesteten Isolaten voraus [60]. Die erhobenen Resultate sollen mit dem klinischen Verlauf der entsprechenden antimikrobiellen Therapie verglichen werden. Die Übereinstimmung soll zwischen *in vitro* und *in vivo* über 85% betragen. Dieselben Werte wurden auch von LING et al. (1984) vorausgesetzt [94].

Die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Antibiotogramme verschaffen dennoch einen Einblick in die Resistenzsituation bei tierpathogenen Bakterien in Zürich und Umgebung. Weitere Untersuchungen müssen folgen, um die erhobenen Resultate zu vervollständigen und die aufgestellten Thesen zu verifizieren. Die vorliegenden Resultate geben aber Hinweise zur Wirksamkeit von antimikrobiellen Wirkstoffen bei gewissen Bakterienspezies/Patienten-Kombinationen. In keinem Fall erübrigen sie ein Antibiotogramm des isolierten Erregers. Nur kann manchmal der Beginn einer antimikrobiellen Therapie schon vor Erhalt des Antibiotogramms angezeigt sein. In diesen Fällen soll die Kenntnis über Spezies- und Lokalisation-spezifische Resistenzprofile dem Kliniker eine breitere Basis für die kalkulierte Chemotherapie schaffen und ihm die Wahl eines wirksamen Antibiotikums erleichtern. Vor dem Hintergrund der Ergebnisse dieser Arbeit sollte es möglich sein solche Empfehlungen zu geben. Man muss aber bedenken, dass diese Empfehlungen auf mikrobiologischen Werten und Erfahrungen basieren, ohne dass dabei klinische Aspekte berücksichtigt werden konnten. Eine enge Zusammenarbeit von Klinik und Diagnostiklabor ist die Voraussetzung für eine Verbesserung dieser Dienstleistung. Nur anhand von regelmässigen Rückmeldungen aus der Klinik über Erfolg und Misserfolg der durchgeführten Therapie können entsprechende Anpassungen im Labor vorgenommen werden.

2.1 Grampositive Bakterien

Bei Infektionen mit *Staphylococcus aureus* bei Hunden, sollte auf eine Applikation von β -Lactam-Antibiotika verzichtet werden. Die Erfolgsaussichten einer Therapie mit Penicillinen sind äusserst gering, selbst in der Kombination mit β -Lactamase-Hemmern wie Clavulansäure. Ebenfalls verzichtet werden sollte auf Enrofloxacin. Die Publikation von LIN et al. (2007) bestätigen die hohe Resistenzrate gegenüber β -Lactam-Antibiotika und Fluoroquinolonen [95]. Auch GRINBERG et al. (2008) beobachteten in ihrer Studie über MRSA-Isolate von Tieren durchgehend eine zusätzliche Resistenz gegenüber Fluoroquinolonen [96]. In der vorliegenden Studie zeigten die Kombination eines Sulfonamides mit Trimethoprim und Aminoglykoside die beste Wirksamkeit. Auch Tetracyclin versprach in den meisten Fällen eine gute Wirkung. Als Reserveantibiotikum wird Amikacin empfohlen, da es in jedem der vorliegenden Fälle eine Wirkung versprach. Auch PRESCOTT et al. (2002) zählten Amikacin neben Imipenem und Vancomycin zu den „last resort“ Antibiotika [97].

Gegen Infektionen mit *Staphylococcus aureus* bei Pferden zeigen neben Penicillinen auch Gentamicin eine schlechte Wirksamkeit. Einen therapeutischen Erfolg versprachen in jedem Fall neben Amikacin auch die Resultate von Cefazolin. Im Gegensatz zu *Staphylococcus aureus*-Infektionen bei Hunden sollten entsprechende Infektionen bei Pferden erfolgreich mit β -Lactam Antibiotika kombiniert mit β -Lactamase-Hemmern bekämpft werden können. Eine Studie von SNYDER et al. (1987) zeigte eine Zunahme der Resistenzen von koagulasepositiven *Staphylococcus* species-Isolaten von Pferden gegenüber allen getesteten Antibiotika ausser Amikacin und Oxacillin über einen Zeitraum von zehn Jahren [98]. Heute noch, rund zwanzig Jahre später, zeigen sich in der vorliegenden Studie ähnliche Befunde.

Anhand der vorliegenden Resultate wurde ebenfalls deutlich, wie wichtig die Lokalisation der Infektion im Tier ist. Die Empfindlichkeiten derselben Bakterienspezies aus unterschiedlichen Proben einer Tierspezies unterscheiden sich z.T. stark, so z. B. bei *Staphylococcus pseudintermedius*-Isolaten von Hunden. Während Isolate aus Harnproben meist eine gute

Sensibilität gegen Cephalosporine und Penicilline kombiniert mit β -Lactamase-Hemmern versprochen, waren die meisten Isolate aus Operationskontrollen und Gelenkspunktaten nur noch gegen Amikacin sensibel. Auf eine prophylaktische Applikation von Gentamicin perioperativ sollte deshalb möglichst verzichtet werden. Chloramphenicol und Tetracyclin versprochen häufiger einen therapeutischen Erfolg. Die deutlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Isolate-Gruppen lassen ein Hospitalismus-Problem vermuten. Weitere Untersuchungen müssten unternommen werden, um in Erfahrung zu bringen, ob es sich bei den multiresistenten Stämmen um Klone handelt. Sollte eine Pulsfeldgelelektrophorese der isolierten Stämme ein deckungsgleiches Profil zeigen, muss davon ausgegangen werden, dass sich ein Bakterienstamm lokal vermehrt und immer wieder neue Infektionen verursacht. Auch SCHWARZ et al. (2007) beobachteten im Rahmen der BfT-GermVet Monitoring Studie, die von 2004-2006 durchgeführt wurde, Unterschiede zwischen Isolaten verschiedener Lokalisation im Tier. Bei Hund und Katze waren z. B. deutlich mehr koagulasepositive *Staphylococcus species*-Isolate aus Haut, Ohr oder Maulhöhle resistent gegenüber Chloramphenicol, als entsprechende Isolate aus dem Respirationstrakt. Es wurde ebenfalls beobachtet, dass gegenüber neueren und seltener angewandten Wirkstoffen im Allgemeinen weniger Resistenzen auftreten als gegenüber älteren und häufig verwendeten Antibiotika und Chemotherapeutika [99]. Dieses Beispiels verdeutlicht, wie wichtig eine exakte Probenanamnese für die Kontrolle der Resistenzentwicklung ist. Nur wenn die Proben einer Tierart und einer genauen Lokalisation im Tier zugeordnet und in Verbindung zu gewissen Begleitumständen gebracht werden können, sind die Voraussetzungen für eine exakte Erfassung der Resistenzproblematik gegeben. Diese Tatsache ist insbesondere auch im Zusammenhang mit den zum Teil Lokalisations-abhängigen Breakpoints für die Beurteilung der Sensibilität gegenüber verschiedenen Wirkstoffen, wie Ampicillin oder die Kombination von Trimethoprim und Sulfonamid zu sehen.

Koagulasenegative *Staphylococcus species* waren zu 63 % resistent gegen Oxacillin, selten aber gegen die Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure. Auch Penicillin G und Ampicillin zeigten weniger Resistenzen als Oxacillin. Dieser Sachverhalt wirft Fragen auf. Das CLSI hat für koagulasenegative *Staphylococcus species* tiefere Breakpoints im Test gegen Oxacillin angegeben als für koagulasepositive *Staphylococcus species* wie *Staphylococcus aureus* oder *Staphylococcus pseudintermedius*. Dazu wurde festgehalten: „Oxacillin is used to test for susceptibility to methicillin, nafcillin, and cloxacillin. The *S. aureus* interpretive criteria should be used for the coagulase-positive veterinary staphylococci such as *S. intermedius*, but not for the coagulase-variable species *S. hyicus*. Isolates of *Staphylococcus species* should be reported as resistant to other β -lactams when resistant to oxacillin [64].“ Die Differenz zwischen den festgelegten Breakpoints ist gross. Worauf genau dieser Entscheid basiert, konnte nicht nachvollzogen werden. Ein Vergleich der Resultate mit dem therapeutischen Effekt in der Klinik drängt sich auf. Es sollten die Breakpoints im Test gegen Penicillin und Ampicillin ebenfalls entsprechend angepasst werden. Auch SAMPIMON et al. (2007) untersuchten koagulasenegative *Staphylococcus species* auf ihre Empfindlichkeit gegenüber verschiedenen antimikrobiellen Wirkstoffen. Drei davon waren *mecA*-positiv, resistent gegenüber Oxacillin, zeigten aber im Agardilutionstest MHK-Werte gegenüber anderen β -Lactam-Antibiotika im vermeintlich sensiblen Bereich [100].

Unter den koagulasenegativen *Staphylococcus species* gab es in unserer Studie grosse Unterschiede im Resistenzprofil. *Staphylococcus epidermidis* und *haemolyticus* zeigten weitaus häufiger Resistenzen gegen die getesteten Antibiotika als andere Spezies. Auch SAWANT et

al. (2009) beschreiben eine vergleichsweise starke Resistenz von *Staphylococcus epidermidis* unter den koagulasenegativen *Staphylococcus* species [101]. Die erwähnten *Staphylococcus* species scheinen auch in der Humanmedizin besonders gefürchtet zu sein. KLINGENBERG et al. (2007) beschreiben sie als wichtigste Ursache nosokomialer Septikämien bei Neugeborenen in Norwegen [100]. Eine genauere Differenzierung koagulasenegativer *Staphylococcus* species in der veterinärbakteriologischen Diagnostik wäre wertvoll für die Einschätzung der Resistenzlage des Erregers.

Die Vertreter der Familie der *Streptococcaceae* waren in der vorliegenden Studie die einzigen Bakterien, die Resistenzen gegen Amikacin zeigten. Die grösste Resistenzquote zeigte *Enterococcus faecalis* (91 %). Eine reduzierte Wirksamkeit (MHK im intermediären Bereich) war aber auch häufig bei β - und α -hämolisierenden *Streptococcus* species zu finden. Zwar konnten Studien gefunden werden, die ähnliche Resultate zeigen (z.B. diejenigen von CLARK et al. (2008) [102]), keine davon aber ging der Ursache auf den Grund.

Cephalosporine und Amoxicillin-Clavulansäure waren gegen alle β -hämolisierenden *Streptococcus* species wirksam. Auch Penicillin, Ampicillin und Gentamicin zeigten meist eine gute Wirksamkeit. Vermieden werden sollte aufgrund häufiger Resistenzen insbesondere die Anwendung von Tetracyclin. Aber auch Amikacin und Enrofloxacin sollten nicht verwendet werden. Besonders häufig waren die Resistenzen gegen Tetracyclin und Amikacin bei *Streptococcus equi* ssp. *zooepidemicus*-Isolaten aus Proben von Pferden. Ähnliche Resultate erhoben CLARK et al. (2008) in einer umfassenden Studie an Isolaten aus Pferden in Kanada. 95 % der 221 *Str. equi* ssp. *zooepidemicus*-Isolate waren resistent gegenüber Amikacin und 41 % gegenüber Tetracyclin, während Cephalosporine bei 99 % der Isolate eine gute Wirksamkeit versprochen [102].

Im Test gegen α -hämolisierende *Streptococcus* species zeigten vor allem Enrofloxacin, Tetracyclin und Erythromycin häufig Resistenzen. Auf eine Anwendung dieser Wirkstoffe sollte im Zusammenhang mit Infektionen durch α -hämolisierende *Streptococcus* species möglichst verzichtet werden. Vom mikrobiologischen Standpunkt her besser geeignet ist die Kombination von Amoxicillin und Clavulansäure. Die MHK-Werte lagen gegenüber allen getesteten Isolaten im sensiblen Bereich. Ebenfalls gute Wirksamkeit gegenüber α -hämolisierenden *Streptococcus* species zeigten Ampicillin, Cephalosporine und Gentamicin. Auch CERDA-ZOLEZZI et al. (2008) fanden bei α -hämolisierenden *Streptococcus* species mit Resistenzen gegenüber Erythromycin häufig eine gleichzeitige Resistenz gegenüber Penicillin. Cephalosporine zeigten generell eine bessere Wirksamkeit. Die MHK-Werte gegenüber Gentamicin lagen in dieser Studie immer im sensiblen Bereich [103].

Überraschend häufig zeigten *Aerococcus viridans*-Isolate multiple Resistenzen. In der Routinediagnostik wird dieser Erreger häufig als α -hämolisierende *Streptococcus* species erfasst und i.d.R. routinemässig nicht weiter differenziert. Unter Anbetracht der Resistenzsituation könnte eine weitere Differenzierung der α -hämolisierenden *Streptococcus* species, wie es auch für die koagulasenegativen *Staphylococcus* species vorgeschlagen wurde, Sinn machen, um die weitere Entwicklung des Erregers zu verfolgen. Auch ÇETIN et al. (2007) wiesen darauf hin, dass *Aerococcus viridans* wahrscheinlich stark unterdiagnostiziert ist [104].

Das Resistenzprofil von *Aerococcus viridans* ist demjenigen anderer α -hämolyisierenden *Streptococcus* species sehr ähnlich, doch kommen die Resistenzen viel häufiger vor. Nur Amoxicillin-Clavulansäure zeigte gegenüber jedem *Aerococcus viridans*-Isolat MHK-Werte im sensiblen Bereich. Gegenüber Tetracyclin und Erythromycin verhielten sich die meisten Isolate *in vitro* resistent. Auffällig sind die vielen MHK-Werte im intermediären Bereich von Penicillin und Chloramphenicol. Dies könnte auf eine stufenweise Resistenzentwicklung hinweisen, die durch mehrere molekularbiologische Veränderungen zustande kommt. In der Literatur konnten keine Untersuchungen zur Resistenzentwicklung gegenüber Penicillinen oder Chloramphenicol gefunden werden. Besser untersucht sind die Mechanismen, die zur weit verbreiteten Makrolid-Resistenz führen [105]. In diesem Zusammenhang wurde die „Viridans-Gruppe“ der *Streptococcaceae* als wichtiges Reservoir von Resistenzgenen genannt. CERDA-ZOLEZZI et al. (2004) wiesen die Übertragung von Makrolid-Resistenz-vermittelnden Genen auf *Streptococcus pneumoniae* nach [105].

Die „Viridans-Gruppe“ der *Streptococcaceae* verursacht auch in der Humanmedizin zunehmend Probleme. 1967 wurden „*Aerococcus*-like organisms“ erstmals von COLMAN et al. als pathogen beim Menschen beschrieben [106]. 1994 erschien im „Indian Pediatrics“ ein Fallbericht über einen zehnjährigen Jungen, der an einer durch *Aerococcus viridans* verursachten Endokarditis litt. Der Erreger war gegen Penicillin und Gentamicin bereits resistent, konnte aber mit Amikacin und Norfloxacin erfolgreich behandelt werden [107]. CHRISTENSEN et al. beschrieben 1995 siebzehn weitere Fälle. Es handelte sich um ältere Patienten, die wegen Endokarditis, gravierenden Harnwegsinfektionen oder Septikämien hospitalisiert waren. Trotz adäquater antimikrobieller Therapie starben fünf Personen. ÇETIN et al. beschrieben 2007 eine Harnwegsinfektion mit *Aerococcus viridans* bei einer Schwangeren. Basierend auf dem Agardiffusions-Test war der Erreger bereits resistent gegen Cefotaxim, Cefazolin, Cefurosim, Ciprofloxacin und Gentamicin. Die Patientin konnte erfolgreich mit Ampicillin behandelt werden. 2008 wurde *Aerococcus viridans* als Verursacher einer Spondylodiscitis beschrieben [108]. Obwohl dieser α -hämolyisierende Vertreter der *Streptococcaceae* nur selten als Erreger beim Menschen beschrieben ist, sind seine Auswirkungen im Falle einer Infektion verheerend. *Aerococcus viridans* kommt in geringer Zahl im oberen Respirationstrakt und auf der Haut von gesunden Menschen vor. Untersuchungen haben gezeigt, dass diese saprophytische Bakterienspezies 5-10 % der bakteriellen Flora in der Luft und im Staub belegter Krankenzimmer ausmacht [104]. Deshalb ist es wahrscheinlich, dass das Bakterium *Aerococcus viridans* seine Resistenzeigenschaften häufiger in der Umgebung als im Patienten erwirbt.

Besser bekannt ist die Resistenzproblematik innerhalb der Streptokokken im Zusammenhang mit Infektionen verursacht durch *Enterococcus* species. Unter den α -hämolyisierenden Vertretern der Familie der *Streptococcaceae* zeigten sie auch in der vorliegenden Studie mit Abstand am meisten Resistenzen. Aufgefallen ist hingegen der grosse Unterschied zwischen den Spezies *Enterococcus* (*E.*) *faecalis* und *E. faecium*. Alle *E. faecalis*-Isolate waren sensibel gegenüber Penicillin, Ampicillin und Amoxicillin-Clavulansäure, während unter den *E. faecium*-Isolaten rund ein Drittel bis die Hälfte resistent war. Schon 1979 beobachteten MÖLLERING et al. eine höhere Resistenzrate gegenüber Penicillinen bei *E. faecium* als bei *E. faecalis* [109]. Umgekehrt waren fast alle *E. faecium* sensibel gegenüber Chloramphenicol, während *E. faecalis*-Isolate zur Hälfte resistent waren. Auch gegenüber Tetracyclin und den Aminoglykosiden Amikacin und Gentamicin war *E. faecalis* einiges häufiger resistent als *E. faecium*. Für beide Species gilt, dass

Cephalosporine (v.a. erster Generation), Enrofloxacin und Aminoglykoside wegen mangelnder Wirksamkeit und dem Risiko weiterer Selektion resistenter Organismen möglichst nicht angewandt werden sollen. Auch POETA et al. (2005) fanden bei *E. faecalis* viel häufiger Resistenzen als bei *E. faecium*. Sie untersuchten die Resistenzsituation von fäkalen *Enterococcus*-Isolaten bei Wildtieren in Portugal. Während von den 73 getesteten *E. faecalis*-Isolaten nur 5.5 % gegenüber allen elf getesteten Wirkstoffen sensibel waren, zeigten 62.2 % der 45 getesteten *E. faecium*-Isolate keine Resistenzen [110]. Auch HERSHBERGER et al. (2005) fanden in einer umfassenden Studie über die Prävalenz und Resistenzlage von *Enterococcus*-Isolaten von Rindern, Schweinen und Truten in den Vereinigten Staaten deutlich mehr Gentamicin-Resistenzen bei *E. faecalis* als bei *E. faecium*. Des Weiteren wurden deutlich mehr resistente Erreger auf Farmen mit Verwendung antimikrobieller Futterzusatzstoffe gefunden als auf Farmen, die keine Antibiotika als Wachstums- und/oder Leistungsförderer verwendeten [111].

Zusammenfassend muss man also folgern, dass innerhalb der Gruppe der α -hämolyisierenden Streptokokken immer eine Testung der Antibiotikaempfindlichkeit mittels MHK-Bestimmung in den Untersuchungsgang integriert werden muss.

2.2 Gramnegative Bakterien

Grosse Unterschiede sogar innerhalb derselben Bakterienspezies sind bei *Escherichia (E.) coli*, isoliert aus Harnproben von Hunden und Katzen, aufgetreten. Die pathogenere Gruppe der hämolysierenden *E. coli* war gegenüber allen getesteten antimikrobiellen Wirkstoffen wesentlich häufiger sensibel als die weniger pathogene Gruppe der nicht-hämolyisierenden *E. coli*. Analog dazu beobachteten PIATTI et al. (2008) in ihrer Studie zu *E. coli*-Isolaten aus Harnproben von Menschen, dass virulente Stämme i.d.R. weniger Resistenzen gegenüber Antibiotika und Chemotherapeutika aufweisen als weniger virulente Stämme [112]. Sie vermuten, dass der Erwerb von Resistenzen mit dem Verlust von Virulenzfaktoren einhergeht, konnten dies bisher jedoch noch nicht belegen.

Hämolyisierende und nicht-hämolyisierende *E. coli* wurden etwa gleich häufig aus dem Harn von Hunden und Katzen mit Harnwegsinfektionen isoliert. Während nicht-hämolyisierende *E. coli* Teil der normalen Darmflora sind und ubiquitär vorkommen, sind hämolysierende *E. coli* stark an den Wirt gebunden. Letztere sind deshalb nur im Tier antimikrobiellen Wirkstoffen ausgesetzt, während nicht-hämolyisierende auch ausserhalb des Tieres mit Antibiotika und Chemotherapeutika in Kontakt kommen und Resistenzen entwickeln können. Diesen Hergang unterstützt eine Studie von OGEER-GYLES et al. (2006). Die Forschungsgruppe hatte gezeigt, dass die Resistenzlage von *E. coli*-Stämmen der Darmflora von Hunden im Verlauf eines Aufenthaltes auf der Intensivstation mit jedem weiteren Tag um 50 % zunimmt. Die Befunde waren unabhängig davon, ob der betroffene Hund mit Antibiotika behandelt wurde oder nicht. [113] Eine andere These formulierten USEIN et al. (2008). Die Forschungsgruppe zeigte anhand von *E. coli*-Isolaten von hospitalisierten Personen in Rumänien, dass Fluoroquinolon-resistente *E. coli* kein Gen für die Hämolysin-Produktion besitzen. Sie vermuten, dass die gleichzeitige Resistenz gegenüber Fluoroquinolon- und β -Lactam-Antibiotika einen grösseren Standortvorteil vermittelt, als Virulenzfaktoren, die z. B. die Sekretion von Hämolysin ermöglichen [114].

Nur Aminoglykoside, darunter vor allem Amikacin, waren noch in jedem Fall wirksam gegen nicht-hämolisierende *E. coli*. Es stellt sich die Frage, ob sie ihrer nephrotoxischen Nebenwirkung wegen bei Harnwegsinfektionen nicht eingesetzt wurden und deshalb ihre Wirksamkeit behielten. BALL et al. (2008) fanden in ihrer fünfjährigen Studie über die Resistenzentwicklung bei uropathogenen Bakterien dagegen eine bedeutende Zunahme der Resistenzen gegen Gentamicin. Sie vermuten, dass sich Gene verschiedener Resistenzen auf demselben Integron befinden und deshalb gemeinsam selektiert werden [115]. Diese These wurde von KADLEC et al. (2008) bestätigt. Die Forschungsgruppe fand verschiedene Genkassetten, die Resistenzen gegenüber Trimethoprim, Streptomycin und Spectinomycin, Gentamicin, Tobramycin und Kanamycin, Streptothricin oder Chloramphenicol vermitteln und konnten diese in verschiedenen Kombinationen auf Integrons der Klasse 1 oder 2 von *E. coli*-Isolaten nachweisen [116].

Ampicillin wird wegen seiner Anreicherung im Harn gerne als Therapeutikum von Harnwegsinfektionen verwendet. Dementsprechend häufig sind Resistenzen zu finden. Auch andere Studien fanden am meisten Resistenzen im Test gegenüber Ampicillin; wie z. B. die Studie von GROBBEL et al. (2007), die im Rahmen der BfT-GermVet-Studie in Deutschland durchgeführt wurde. Ebenfalls häufig fanden wir in unseren Untersuchungen Resistenzen gegen das einstige Reserveantibiotikum Enrofloxacin. Eine bessere Wirksamkeit versprechen Cephalosporine und die Kombination von Sulfonamid und Trimethoprim. Auch in der Studie von Grobbel et al. zeigten Cephalosporine die beste Wirksamkeit, wobei aber Resistenzen gegenüber Enrofloxacin nur selten auftraten [117].

Noch gravierender als bei Kleintieren zeigt sich die Resistenzsituation bei nicht-hämolisierenden *E. coli*-Isolaten aus Proben von Pferden. Gegen die bei Kleintieren noch gut wirksame Kombination von Sulfonamid und Trimethoprim, waren die meisten Isolate von Pferden resistent. Die Kombination dieser Wirkstoffe ist als per oral zu verabreichendes Präparat (Rota-TS®) in der Schweiz zugelassen. Es ist deshalb eines der einzigen antimikrobiell wirksamen Medikamente, welches an den Tierbesitzer für die Fortsetzung der Behandlung abgegeben werden darf. Durch die häufige und manchmal vielleicht auch unsachgemäße Verwendung durch den Tierbesitzer konnten sich resistente Stämme durchsetzen. Das bei Kleintieren ebenfalls noch gut wirksame Gentamicin, war bei aus Pferdeproben isolierten Stämmen ebenfalls kaum noch wirksam. Die Kombination von Penicillin und Gentamicin wird gerne der breiten Wirkung wegen prophylaktisch bei operativen Eingriffen verwendet. Auch in diesem Fall wird ein Zusammenhang zwischen der häufigen Applikation und der stark verbreiteten Resistenzeigenschaft vermutet. Eine 2006 in den Vereinigten Staaten durchgeführte Studie bestätigt diese These. Sowohl Resistenzen gegenüber Sulfonamid-Trimethoprim, als auch gegenüber Gentamicin waren bei stationären Patienten ohne Applikation von Antibiotika häufiger, als bei gesunden Pferden und noch häufiger bei Pferden, welche während mindestens drei Tagen stationär mit diesen Wirkstoffen behandelt wurden [118]. Auch die Studie von KOTERBA et al. (1986) zeigt eine Zunahme der Resistenzen bei fäkalen *E. coli* von stationär behandelten Pferden gegenüber den angewandten Antibiotika Gentamicin, Kanamycin und die Kombination von Sulfadiazin und Trimethoprim über einen Zeitraum von 7 Tagen [119]. Des Weiteren zeigte sich, dass rund ein Fünftel der aufgenommenen Patienten eine nosokomiale Infektion mit gram-negativen, aeroben Bakterien (meist *E. coli* oder *Klebsiella* sp.) zuzogen.

Die gravierende Resistenzsituation bei nicht-hämolisierenden *E. coli*-Isolaten verlangt nach einer genaueren Untersuchung der Herkunft der verschiedenen Stämme. Aufschluss geben

könnten auch hier die mittels Restriktionsenzymen und Pulsfeldgelelektrophorese aufgetrennten Genfragmente. Ähnliche Muster weisen auf Klone eines einzelnen Stammes und somit auf einen Hospitalismuskern hin. MA et al. (2002) haben bei einem seuchenhaften Auftreten von *E. coli*-Infektionen mit hoher Resistenzrate gegenüber Cefotaxim in drei geriatrischen Kliniken in demselben Distrikt Japans entsprechende Studien durchgeführt [120]. Sie konnten nachweisen, dass fünfzehn der siebzehn gefundenen Stämme dieselben Resistenzgene tragen und wahrscheinlich einen gemeinsamen Ursprung haben. Analoge Studien wurden auch in Schweden durchgeführt. FANG et al. untersuchten *Escherichia coli*-Isolate von Patienten zweier benachbarter Krankenhäuser in Stockholm, nachdem vermehrt Resistenzen gegenüber β -Lactam-Antibiotika festgestellt wurden. Bei den getesteten Isolaten handelte es sich um Klone von nur zwei Mutterstämmen, die alle das Gen für die Bildung von ESBL trugen und gleichzeitig resistent gegenüber Ciprofloxacin waren [121].

Amikacin war auch bei den weiteren untersuchten Vertretern der Familie der *Enterobacteriaceae* das einzige zuverlässig wirksame Antibiotikum. In absteigender Reihenfolge wiesen *Enterobacter species* (sp.), *Acinetobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Shigella* sp., *Salmonella Typhimurium*, *Serratia* sp., *Proteus mirabilis* und *Pantoea agglomerans* verschiedene Resistenzen auf. β -Lactame mit breitem Spektrum wie Ampicillin oder Cephalosporine sind meist nicht mehr wirksam. Bessere Wirksamkeit versprechen Tetracyclin (ausser bei *Proteus mirabilis*), die Kombination von Sulfonamid und Trimethoprim sowie Aminoglykoside.

Weitaus am häufigsten waren Multiresistenzen bei *Enterobacter species* und *Acinetobacter species*, wo manchmal Amikacin einziges wirksames Antibiotikum unter den 18 getesteten Wirkstoffen war. *Acinetobacter species* verursachen beim Menschen gravierende Lungenentzündungen und finden als Hospitalismuskern immer grössere Beachtung. BOO et al. (2009) haben eine Studie zur Prävalenz von Carbapenem-Resistenzen bei *Acinetobacter species* in der Region von Dublin durchgeführt. In einem Zeitraum von 30 Monaten hat die Anzahl der Resistenzen deutlich zugenommen. Es wurde ein Zusammenhang mit der vorhergehenden Applikation nicht nur von Carbapenemen sondern auch anderer Antibiotika, v.a. der Kombination von β -Lactam-Antibiotika und β -Lactamase-Hemmern, gefunden [122]. Auf einer Intensivstation für Neugeborene in Tunesien verursachten Klone eines multiresistenten *Acinetobacter baumannii*-Isolates gravierende Lungenentzündungen bei Neugeborenen. Zehn der 31 stationierten Kinder starben daran [123]. Doch auch in der Veterinärmedizin verursachen multiresistente *Acinetobacter baumannii*-Stämme nosokomiale Infektionen. Eine entsprechende Studie wurde im Jahr 2000 in der Abteilung für Kleintiermedizin des Tierspitals Bern durchgeführt [124]. Die grossen Probleme sowohl in der Human- als auch in der Tiermedizin drängen die Frage nach dem zoonotischen Potential des Erregers auf. Entsprechende Hinweise konnten in der Literatur nicht gefunden werden. Die Entwicklung der Prävalenz und Resistenz des Erregers sollte jedoch unbedingt weiter verfolgt werden, um gegebenenfalls rechtzeitig entsprechende Vorsichtsmassnahmen treffen zu können.

Auch *Salmonella Typhimurium* muss als weiterer wichtiger Zoonoseerreger genau untersucht und die Resistenzentwicklung beobachtet werden. Alle drei im Rahmen dieser Studie getesteten Isolate waren noch sensibel gegenüber Sulfonamid-Trimethoprim, Gentamicin und Amikacin. Weil sie sonst aber unterschiedliche Resistenzmuster aufweisen, handelt es sich wohl nicht um Klone eines einzelnen Stammes. Die Wahrscheinlichkeit eines Hospitalismus-Problems kann deshalb als gering betrachtet werden. Diese Beobachtungen müssen aber anhand weiterer Untersuchungen verifiziert werden. VO et al. (2007) haben in den Niederlanden solche

Untersuchungen durchgeführt, um die Entwicklung der Resistenzen bei *Salmonella species* zu verfolgen und das Risiko nosokomialer Infektionen zu überwachen [125].

Unter den Vertretern der Familie *Pasteurellaceae*, wie *Actinobacillus species* und *Pasteurella species*, fiel nur ein Isolat wegen multiplen Resistenzen auf. Es handelt sich um *Pasteurella pneumotropica*, isoliert aus der Luftsackspülprobe eines Pferdes. Allein die MHK gegenüber Amoxicillin-Clavulansäure befand sich im sensiblen Bereich. Alle anderen Werte wiesen auf eine Resistenz des Bakteriums gegen diese Wirkstoffe hin. Der Erreger wird neben *Actinobacillus equuli* als Ursache für Erkrankungen der unteren Atemwege beim Pferd genannt [126]. Es wurden jedoch keine multiplen Resistenzen beschrieben. Eine genaue Erfassung weiterer solcher Fälle wäre notwendig, um diese gravierende Resistenzsituation genauer zu ergründen. Bei dem gefürchteten Erreger der Früh-Fohlenlähme, *Actinobacillus equuli*, konnten hingegen auch in der vorliegenden Studie keine Resistenzen festgestellt werden.

Pseudomonas aeruginosa ist weltweit bekannt als nosokomialer Erreger in Krankenhäusern [127]. Das gram-negative, Lactose-negative und Oxidase-positive Bakterium kommt ubiquitär vor. Es verbreitet sich besonders gut in feuchter Umgebung, besiedelt Oberflächen mit Biofilmen und toleriert sowohl hohe als auch tiefe Temperaturen, hohe Salzkonzentrationen und schwache Desinfektionsmittel. Das Bakterium invadiert und infiziert verschiedene Gewebearten bei Tier und Mensch und ist auch als pathogener Erreger bei Pflanzen beschrieben [128, 129].

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen den Verdacht, dass *Pseudomonas (Ps.) aeruginosa* am Tierspital Zürich als multiresistenter Erreger Schwierigkeiten bereitet. Zehn Prozent der untersuchten Isolate wurden als *Ps. aeruginosa* diagnostiziert. Keines davon verhielt sich gegenüber Ampicillin, Amoxicillin-Clavulansäure, Cephalothin, Cefazolin, Chloramphenicol, Tetracyclin oder Sulfonamid-Trimethoprim empfindlich. Die beste Wirksamkeit zeigten die Vertreter der Aminoglykoside Gentamicin und Amikacin. Doch auch gegen diese Wirkstoffe waren bereits Resistenzen zu finden. Auffällig schlecht war die Wirksamkeit des Reserveantibiotikums Enrofloxacin. 58 % der Isolate von Hunden zeigten dagegen MHK-Werte im intermediären Bereich.

Ein grosser Teil der untersuchten Isolate stammt aus Proben der Haut und Hautanhangsorgane von Hunden. Von diesen 16 *Ps. aeruginosa*-Stämmen wurden elf aus Ohrtrupfern isoliert. Gerade bei Hunden mit Hängeohren, bietet das feucht-warme Milieu optimale Wachstumsbedingungen für diese multiresistente Bakterienspezies. Zwar sind Aminoglykoside in über der Hälfte der Fälle noch wirksam, doch sollten sie ihrer ototoxischen Nebenwirkung wegen nicht eingesetzt werden. Bei hartnäckigen Ohrerkrankungen wird häufig eine Mischung von TRIS-EDTA, Dexadreson und Enrofloxacin (5 %) verwendet. Allerdings wirkt Enrofloxacin nur noch in einem Fünftel aller aus Ohrinfektionen isolierten *Ps. aeruginosa*. Bei weiteren 50% lag die MHK immerhin noch im intermediären Bereich. Doch gerade wenn eine ätiologische Therapie kaum mehr möglich ist, spielt die körpereigene Immunantwort eine grosse Rolle. Die Applikation von immunsuppressiv wirkenden Kortikosteroiden ist bei Infektionen mit multiresistenten Erregern kontraindiziert.

Studien zur Resistenzlage von *Pseudomonas aeruginosa*-Isolaten aus Proben von Hunden mit Otitis externa oder Pyodermie wurden von RUBIN et al. (2008) in Kanada durchgeführt. 106 Isolate wurden auf ihre Empfindlichkeit gegenüber diversen antimikrobiellen Wirkstoffen getestet [130]. Die Resultate entsprechen weitestgehend den im Rahmen dieser Studie erhobenen Werten. Zusätzlich wurde jedoch die Wirksamkeit eines Cephalosporins dritter

Generation in Kombination mit Clavulansäure getestet. Rund vier Fünftel der MHK-Werte lagen im sensiblen Bereich.

Eine weitere grosse Gruppe bilden die *Ps. aeruginosa*-Isolate aus Proben von Operationskontrollen und Gelenkspunktaten von Hunden. Leider ist nicht bekannt, ob im Vorfeld der Gelenkspunktion jeweils eine Arthroskopie stattgefunden hatte oder nicht. Diese Information wäre jedoch wertvoll, um den Anteil iatrogener Infektionen abschätzen zu können. Nur so wären gezielte Gegenmassnahmen möglich. Es konnten keine Studien zum Risiko einer nosokomialen Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* während einer chirurgischen Intervention gefunden werden.

Zwar sind nur fünf *Ps. aeruginosa* aus Proben von Pferden isoliert worden, dennoch zeichnet sich eine ähnliche, wenn nicht noch gravierendere Resistenzsituation als bei den Kleintieren ab. Zwei der fünf Isolate waren sogar gegen Gentamicin und Amikacin resistent. Die Resistenzentwicklung muss unbedingt weiter beobachtet und mögliche Gegenmassnahmen erarbeitet werden.

Wie für *Escherichia coli*-Isolate vorgeschlagen, sollten auch *Pseudomonas aeruginosa*-Isolate auf ihre Ähnlichkeit untersucht werden. Hospitalismuskeime könnten so erkannt und gezielt bekämpft werden [127, 131]. Durch einen Vergleich des genetischen Profils mit Isolaten aus der Humanmedizin, kann zudem das zoonotische Potential besser abgeschätzt werden. Eine in Edinburgh durchgeführte Studie von HAMOUDA et al. (2008) hat gezeigt, dass *Pseudomonas aeruginosa*- und *Acinetobacter baumannii*-Isolate von Lebensmittel-produzierenden Tieren andere genetische Profile aufweisen, als solche, die aus Proben von erkrankten Personen isoliert wurden [132].

3 Fazit über die Analyse von drei Testmethoden zur Prüfung der Antibiotikaempfindlichkeit von tiermedizinisch relevanten Bakterien und die regionale Resistenzlage

Die vorliegende Studie verdeutlicht den Wert und die Notwendigkeit der Integration einer Resistenztestung in die Routine-Diagnostik. Dabei zeigte sich, dass die Bouillondilution das am besten geeignete Verfahren zur Resistenztestung ist. Sie entspricht dem heutigen Stand der Empfindlichkeitstestung tierpathogener Bakterien gegen Antibiotika und Chemotherapeutika *in vitro*, ist einfach durchzuführen und genau. Über eine häufigere Verwendung und Verteilung der Chargen auf verschiedene Labors wären auch die Kosten noch zu senken. Der ATB VET Test von Biomérieux hat sich als sicher aber wenig spezifisch erwiesen. Zu häufig fallen Antibiotika und Chemotherapeutika in die Klasse der unwirksamen Stoffe, obwohl sie nach Goldstandard noch eine Wirksamkeit hätten. Die Agardiffusion ist eine altbewährte Methode, die relativ kostengünstig, aber aufwändig und wenig genau ist. Zudem eignen sich offensichtlich nicht alle Wirkstoffe gleich gut für eine Empfindlichkeitsprüfung mittels Agardiffusion. Sie sollte nur noch in einzelnen Fällen als Ergänzung Verwendung finden. Insbesondere Erreger mit bekannter Resistenzproblematik (*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus species*, *Escherichia coli* aus Harnproben etc.) werden deshalb nun am IVB mittels Bouillondilution auf ihre Empfindlichkeit gegen antimikrobiell wirksame Substanzen geprüft.

Des Weiteren wurde die Wichtigkeit einer umfassenden Überwachung der Resistenzsituation und der Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika deutlich. Die Quantität des Antibiotika-Verbrauchs in der Schweiz wird durch die Swissmedic erfasst. Für das Monitoring der Resistenzsituation steht mit SEARCH bereits eine Datenbank zur Verfügung. Eine umfassendere Datensammlung wäre aber notwendig, um die Entwicklungen und Zusammenhänge noch besser zu erfassen. Auch Daten von veterinärmedizinisch tätigen Diagnostiklabors sollten zentral erfasst werden. Um eine direkte Vergleichbarkeit der Daten zu ermöglichen, wäre ein einheitlicher Test wünschenswert. Die Anwendung der Bouillondilutionsmethode wäre zu empfehlen, um die Daten auch international vergleichen zu können.

Anhang – Tabellen

Anhang

1 Tabellen

Tabelle 14: Pharmakologische Wirkstoffgruppen

Zellwandsynthesehemmer		
Pharmakologische Gruppe ¹	Wirkstoffe	Leitsubstanz ²
β-Lactame	Penicillin Ampicillin Amoxicillin Ticarcillin	→ Gram-positive Bakterien → Gram-negative Bakterien Ampicillin
β-Lactamase resistente Penicilline	Oxacillin Cloxacillin Nafcillin Amoxicillin-Clavulansäure Ticarcillin-Clavulansäure	Oxacillin “
Cephalosporine - 1. Generation - 2. Generation - 3. Generation - 4. Generation	Cephalothin Cefacetril Cefadroxil Cefalexin Cefapirin Cefazolin u.a. Cefoxitin u.a. Ceftiofur Cefovecin Cefotaxin Cefoperazon u.a. Cefquinom Cefepime u.a.	Cephalothin “ “ “ “ Cefazolin (+ gram-negative) Cefoxitin Cefovecin/Ceftiofur “ “ Cefquinom (Kreuzresistenz vermutet [133])
Carbapeneme	Imipenem	Imipenem
Polypeptide	Bacitracin	Bacitracin

Proteinsynthesehemmer		
Pharmakologische Gruppe ¹	Wirkstoffe	Leitsubstanz ²
Aminoglykoside	Gentamicin Amikacin Kanamycin Neomycin Framycetin (Neomycin B) Apramycin Dihydrostreptomycin	Nur Kanamycin und Neomycin zeigen Kreuzresistenz!
Aminocyclitole	Spectinomycin	Spectinomycin
Makrolide - 14er Ring - 15er Ring - 16er Ring	Erythromycin Azithromycin Spiramycin Tylosin Tilmicosin Tulathromycin	Erythromycin Azithromycin Tilmicosin (für alle 16er Ringe)
Lincosamide	Lincomycin Clindamycin Pirlimycin	Clindamycin
Tetracycline	Tetracyclin	Tetracyclin[133]

Anhang – Tabellen

	Oxytetracyclin Chlortetracyclin Doxycyclin	
Phen(ic)ole	Chloramphenicol Florfenicol	keine Leitsubstanz, Resistenzmuster deutlich verschieden. [133]
Pleuromutiline	Tiamulin Valnemulin	
Glykopeptide	Vancomycin	
Steroide	Fusidinsäure	
Rifamycine (Ansamycine)	Rifampicin	

DNA-Gyrasehemmer		
Pharmakologische Gruppe ¹	Wirkstoffe	Leitsubstanz ²
Fluoroquinolone	Enrofloxacin Danofloxacin Difloxacin Ibafloxaacin Marbofloxacin Orbifloxacin	Weitgehende Kreuzresistenz ist wahrscheinlich. [133, 134]
Chinolone	Oxolinsäure	
Sulfonamide	Sulfadiazin Sulfadimethoxin Sulfadimidin Sulfadoxin Sulfaguanidin Sulfamethoxazol Sulfamethoxypyridazin Sulfachlorpyridazin Sulfanilamid Sulfathiazol (Formo-, Phrhalyl-)	Es wird eine komplette Kreuzresistenz aller Sulfonamide vermutet [133].
Diaminopyrimidinderivate	Trimethoprim	

Hemmer der Membranfunktion		
Pharmakologische Gruppe ¹	Wirkstoffe	Leitsubstanz ²
Lipopeptide	Polymyxin B Colistin (Polymyxin E)	Kreuzresistenz wahrscheinlich, aber nicht bestätigt.
Macrocyclide	Thiostrepton	

Radikalbildner		
Pharmakologische Gruppe ¹	Wirkstoffe	Leitsubstanz ²
Nitroimidazole	Metronidazol	
Nitrofuranderivate	Nitrofurazol	

- 1 Aufgelistet sind die Antibiotika, die im Zusammenhang mit der Resistenztestung bakterieller Erreger wiederholt erwähnt [39, 41, 64-67, 135] wurden und in der Tiermedizin Verwendung finden.
- 2 Unter „Leitsubstanz“ aufgelistete Wirkstoffe können auf Grund gleichartiger Resistenzmechanismen als Vertreter anderer getestet werden. So gilt z.B. Cephalothin als Stellvertreter der Cephalosporine erster Generation (ausser Cefazolin, das eine zusätzliche Wirkung gegen Enterobacteriaceae zeigt). Liegt der MHK von Cephalotin im resistenten Bereich, muss davon ausgegangen werden, dass auch bei den übrigen

Anhang – Tabellen

Cephalosporinen der ersten Generation (ausgenommen Cefazolin) kein therapeutischer Erfolg verzeichnet werden kann.

Tabelle 15: in der Schweiz zugelassene Wirkstoffe

	Pfd	Rd	Schf	Zge	Schw	Hd	Ktz	andere
Zellwandsynthesehemmer								
Penicillin-G	x	x	x	x	x	x	x	Heim-, Pelztiere
Ampicillin	x	x	x	x	x	x	x	
Amoxicillin		x	x		x	x	x	Geflügel
Amoxicillin+Clavulansäure		x			x	x	x	
Cloxacillin		x						
Nafcillin		x	x	x				
Cefacetril		x						
Cefadroxil						x	x	
Cefalexin		x				x	x	
Cefapirin		x						
Cefoperazon		x			x			
Ceftiofur		x			x			
Cefovecin						x	x	
Cefquinom	x	x			x			
Bacitracin		x				x	x	Heimtiere
Proteinsynthesehemmer								
Kanamycin		x				x	x	
Gentamicin	x	x	x	x	x	x	x	
Neomycin	x	x	x		x	x	x	Heimtiere
Framycetin (Neomycin B)						x	x	
Dihydrostreptomycin	x	x	x	x	x	x	x	Heim-, Pelztiere
Spectinomycin		x			x	x	x	
Tetracyclin	x	x		x	x			Heimtiere
Oxytetracyclin		x	x	x	x	x	x	Fische
Chlortetracyclin	x	x		x				
Doxycyclin		Kalb			x	x	x	
Chloramphenicol						x	x	kleine Nager
Florfenicol		x			x			
Lincomycin		x			x	x	x	
Clindamycin						x		
Erythromycin	keine Zulassung in der CH							
Spiramycin		x		x	x	x	x	
Tylosin		x			x			(Trut-)Huhn
Tilmicosin		x			x			Hühner
Tulathromycin		x			x			
Tiamulin					x			Geflügel
Valnemulin					x			
Fusidinsäure						x	x	
Rifampicin	keine Zulassung in der CH							
DNS-Gyrasehemmer								
Enrofloxacin		x			x	x	x	(Trut-)Huhn, Heimtiere, Exoten
Danofloxacin		x			x			
Difloxacin						x		
Ibafloxacin						x	x	
Marbofloxacin		x			x	x	x	
Orbifloxacin						x		
Sulfachlorpyridazin		x			x			Geflügel

Anhang – Tabellen

Sulfaclozin								(Trut-)Huhn
Sulfadiazin	x	x			x	x	x	
Sulfadimethoxin						x	x	Heimtiere
Sulfadimidin	x	x	x	x	x			Kaninchen
Sulfadoxin	x	x			x	x	x	
Sulfaguanidin		x						
Sulfamethoxazol		x			x	x	x	
Sulfamethoxypyridazin	x	x			x			
Sulfanilamid		x			x			
Sulfathiazol	x	x	x	x	x	x		
Formosulfathiazol	x	x	x	x	x	x	x	Heimtiere
Phrhalysulfathiazol		x	x		x			
Trimethoprim	x	x	x	x	x	x	x	Geflügel
Sulfonamid-Trimethoprim	x	x	x	x	x	x	x	Geflügel
Oxolinsäure								Geflügel, Fisch
Hemmer der Membranfunktion								
Polymyxin B		x				x	x	Heimtiere
Colistin (Polymyxin E)		x			x	x	x	Heimtiere
Thiostrepton						x	x	Heimtiere
Radikalbildner								
Nitrofurazol						x	x	Heimtiere
Dichlorophen		x	x			x	x	
Bronopol								Nutzfische
Nifurpirinol								Zierfische

x = Es existieren in der CH für diese Tierart zugelassene Präparate, die diesen Wirkstoff enthalten. (s. www.clinipharm.ch)

Tabelle 16: am Tierspital Zürich verwendete Wirkstoffe

	erste Priorität	zweite Priorität
Kleintier-Medizin	Amoxicillin Amoxicillin-Clavulansäure (4:1) Cefalexin (1. Generation) Cefotaxin (3. Generation) Enrofloxacin Marbofloxacin Doxycyclin Clindamycin Metronidazol	Sulfonamid-Trimethoprim Azithromycin Chloramphenicol
Kleintier-Chirurgie	Cefazolin Amoxicillin Amoxicillin-Clavulansäure (4:1)	Enrofloxacin Clindamycin Doxycyclin
Pferde-Medizin	Penicillin Gentamicin Marbofloxacin Doxycyclin Sulfadimidin-Trimethoprim (5:1) Cefquinom (4. Generation) Amikacin	Erythromycin Oxytetracyclin Metronidazol Rifampicin
Pferde-Chirurgie	Penicillin Gentamicin Cefquinom (4. Generation) Sulfadimidin-Trimethoprim (5:1) Marbofloxacin	keine Angaben

Anhang – Tabellen

Tabelle 17: in der Literatur vertretene Wirkstoffe

antimikrobieller Wirkstoff	CLSI*	Grosstier-Layout Luhof et al. [66]	Kleintier-Layout Werckenthin et al. [67]
Penicillin G	X	X	X
Ampicillin	X	X	X
Amoxicillin-Clavulansäure	X	2:1	2:1
Ticarcillin-Clavulansäure	X		
Oxacillin			X
Imipenem	X		
Cephalothin	X	X	X
Cefazolin	X		
Cefovecin			X
Cefoxitin	X		
Ceftiofur	X	X	
Cefquinom		X	
Gentamicin	X	X	X
Kanamycin	X		X
Neomycin		X	
Amikacin	X		
Apramycin	X	X	
Spectinomycin	X	X	
Erythromycin	X	X	X
Tylosin	X		
Tilmicosin	X	X	
Clindamycin	X	X	X
Pirlimycin	X		
Tetracyclin	X	X	X
Chloramphenicol	X		X
Florfenicol	X	X	
Tiamulin	X	X	
Vancomycin	X		
Rifampicin	X		
Enrofloxacin	X	X	X
Difloxacin	X		X
Marbofloxacin			X
Orbifloxacin	X		X
Sulfamethoxazol-Trimethoprim (19:1)	X	X	X
Colistin		X	

* Das Clinical Laboratory and Standards Institute hat für diese Wirkstoffe Breakpoints veröffentlicht.

Anhang – Tabellen

Tabelle 18: Agardiffusion-Breakpoints für *Staphylococcus* spp. isoliert von Tieren nach CLSI [64]

Ø mm	<i>St. aureus</i>		<i>St. pseudintermedius</i>		<i>St., Koag.-neg.</i>	
	min.	max.	min.	max.	min.	max.
P	28	29	28	29	28	29
PB	-	-	-	-	-	-
AMP	28	29	28	29	28	29
CT	-	-	-	-	-	-
OX	10	13	10	13	17	18
RD	-	-	-	-	-	-
CEQ	-	-	-	-	-	-
KF	14	18	14	18	14	18
EFT	-	-	-	-	-	-
KZ	14	18	14	18	14	18
C	12	18	12	18	12	18
FFC	-	-	-	-	-	-
E	13	23	13	23	13	23
CN	12	15	12	15	12	15
DA¹	14	21	14	21	14	21
AK	14	17	14	17	14	17
TE	14	19	14	19	14	19
N	-	-	-	-	-	-
ENR²	16	23	16	23	16	23
MAR³	14	20	14	20	14	20
TIL	-	-	-	-	-	-
AZM	-	-	-	-	-	-
IPM	13	16	13	16	13	16
AMC	19	20	19	20	19	20
VA⁴	-	15	-	15	-	15
SXT	10	16	10	16	10	16
SH	-	-	-	-	-	-
B	-	-	-	-	-	-
MTZ	-	-	-	-	-	-

¹ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, Weichteile)

² die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, RT, UGT), und Katzen (Haut)

³ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, UGT) und Katzen (Haut)

⁴ Inkubation über genau 24h erforderlich

Anhang – Tabellen

Tabelle 19: Agardiffusion-Breakpoints für *Streptococcus* spp. und *Enterococcus* spp. isoliert von Tieren nach CLSI [64]

Ø mm	<i>Streptococcus</i> spp.		<i>Enterococcus</i> spp.	
	min.	max.	min.	max.
P	-	24¹	14	15
PB	-	-	-	-
AMP	18²	26²	16	17
CT	-	-	-	-
OX	-	-	-	-
RD	-	-	16	20
CEQ	-	-	-	-
KF	14	18	14	18
EFT	17³	21³		
KZ	14	18	14	18
C	17⁴	21⁴	12	18
FFC	18⁵	22⁵	-	-
E	15	21	13	23
CN	12	15	12	15
DA	-	-	-	-
AK	14	17	14	17
TE	18	23	18	23
N	-	-	-	-
ENR⁶	16	23	16	23
MAR⁷	14	20	14	20
TIL	-	-	-	-
AZM	-	-	-	-
IPM	13	16	13	16
AMC	13	18	13	18
VA⁸	-	17	14	17
SXT	15⁹	19⁹	-	-
SH	-	-	-	-
B	-	-	-	-
MTZ	-	-	-	-

¹ gilt nur für β -hämolisierende *Str. sp.*, nur gültig mit 5% Schafblut und CO₂-Inkubation

² gilt nicht für *Str. pneumoniae*

³ gilt nur für *Str. suis* vom Schwein, *Str. equi ssp. zooepidemicus/equi* vom Pfd (RT): max. 22 mm

⁴ für *Str. pneumoniae* gelten die Breakpoints min. 20 mm und max. 21 mm

⁵ gilt nur für *Str. suis*-Isolate von Schweinen

⁶ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, RT, UGT), und Katzen (Haut)

⁷ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, UGT) und Katzen (Haut)

⁸ Inkubation über genau 24h erforderlich

⁹ gilt nur für *Str. pneumoniae*

Anhang – Tabellen

Tabelle 20: Agardiffusion-Breakpoints für *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas aeruginosa* isoliert von Tieren nach CLSI [64]

Ø mm	<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Ps. aeruginosa</i>	
	min.	max.	min.	max.
P	-	-	-	-
PB	-	-	-	-
AMP	13	17	-	-
CT	-	-	-	-
OX	-	-	-	-
RD	-	-	-	-

CEQ	-	-	-	-
KF	14	18	14	18
EFT	-	-	-	-
KZ	14	18	14	18
C	12	18	12	18
FFC	-	-	-	-

E	-	-	-	-
CN	12	15 ¹	12	15
DA	-	-	-	-
AK	14	17	14	17
TE	14	19	14	19
N	-	-	-	-

ENR ²	16	23	16	23
MAR ³	14	20	14	20
TIL	-	-	-	-
AZM	-	-	-	-
IPM	13	16	13	16

AMC	13	18	13	18
VA	-	-	-	-
SXT	10	16	-	-
SH	-	-	-	-
B	-	-	-	-
MTZ	-	-	-	-

¹ für Isolate von Hunden und Pferden gilt ein oberer Breakpoint (max.) von 16mm

² die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, RT, UGT), und Katzen (Haut)

³ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, UGT) und Katzen (Haut)

Anhang – Tabellen

Tabelle 21: Bouillondilution-Breakpoints für *Staphylococcus* spp. isoliert von Tieren nach CLSI [64]

mcg/ml	<i>St. aureus</i>		<i>St. pseudintermedius</i>		<i>St., Koag.-neg.</i>	
	min.	max.	min.	max.	min.	max.
PEN	0.125	0.25	0.125	0.25	0.125	0.25
AMP	0.25	0.5	0.25	0.5	0.25	0.5
AMC	4/2	8/4	4/2	8/4	4/2	8/4
OXA	2	4	2	4	0.25	0.5
CEL	8	32	8	32	8	32
CEZ	8	32	8	32	8	32
CEV	-	-	-	-	-	-
CEQ	-	-	-	-	-	-
CHL	8	32	8	32	8	32
TET	4	16	4	16	4	16
SXT	0.5/9.5 ¹	4/76	0.5/9.5 ¹	4/76	0.5/9.5 ¹	4/76
ERY	0.5	8	0.5	8	0.5	8
CLI ²	0.5	4	0.5	4	0.5	4
AMI	16	64	16	64	16	64
GEN	4	16	4	16	4	16
COL	-	-	-	-	-	-
RIF	-	-	-	-	-	-
ENR ³	0.5	4	0.5	4	0.5	4

¹ für Isolate aus dem Harntrakt gilt ein unterer Breakpoint (min.) von 2/38 mcg/ml

² die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, Weichteile)

³ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, RT, UGT), und Katzen (Haut)

Anhang – Tabellen

Tabelle 22: Bouillondilution-Breakpoints für *Streptococcus* spp. und *Enterococcus* spp. isoliert von Tieren nach CLSI [64]

mcg/ml	<i>Streptococcus</i> spp.		<i>Enterococcus</i> spp.	
	min.	max.	min.	max.
PEN	0.12 ¹	4 ¹	8	16
AMP	0.25 ²	8 ²	8	16
AMC	8/4	32/16	8/4	32/16
OXA	-	-	-	-
CEL	8	32	8	32
CEZ	8	32	8	32
CEV	-	-	-	-
CEQ	-	-	-	-
CHL	4 ³	16 ³	8	32
TET	2 ⁴	8 ⁴	4	16
SXT	-	-	-	-
ERY	0.25	1	0.5	8
CLI	-	-	-	-
AMI	16	64	16	64
GEN	4	16	4	16
COL	-	-	-	-
RIF	-	-	1	4
ENR ⁵	0.5	4	0.5	4

¹ gilt nur für *Str. viridans* Gruppe, Bouillon mit 2-5% lysiertem Pferdeblut, inkubiert in CO₂

¹ für β -hämolyisierende *Str. sp.* gilt ein unterer Breakpoint (min.) von 0.12 mcg/ml

¹ *Str. pneumoniae*: 0.06 min., 2 max.

² gilt nicht für *Str. pneumoniae*

² für *Str. canis* gilt ein oberer Breakpoint (max.) von 0.5 mcg/ml

² für *Str. equi ssp. zooepidemicus/equi* von Pferden (RT) gilt max. 0.5 mcg/ml

³ für *Str. pneumoniae* gelten die Breakpoints min. 4 mcg/ml und max. 8 mcg/ml

⁴ für *Str. suis*-Isolate aus dem RT von Schweinen gelten die Breakpoints min. 0.5 mcg/ml und max. 2 mcg/ml (nur bei parenteraler Applikation des Tetracyclins)

⁵ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, RT, UGT), und Katzen (Haut)

Anhang – Tabellen

Tabelle 23: Bouillondilution-Breakpoints für *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas aeruginosa* isoliert von Tieren nach CLSI [64]

mcg/ml	<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Ps. aeruginosa</i>	
	min.	max.	min.	max.
PEN	-	-	-	-
AMP	8¹	32¹	-	-
AMC	8/4	32/16	8/4	32/16
OXA	-	-	-	-
CEL	8	32	8	32
CEZ	8	32	8	32
CEV	-	-	-	-
CEQ	-	-	-	-
CHL	8	32	8	32
TET	4	16	4	16
SXT	0.5/9.5²	4/76	-	-
ERY	-	-	-	-
CLI	-	-	-	-
AMI	16	64	16	64
GEN³	4	16	4	16
COL	-	-	-	-
RIF	-	-	-	-
ENR⁴	0.5	4	0.5	4

¹ für *E. coli*-Isolate von Hunden (Haut, Weichteile) gelten die Breakpoints min. 0.25 mcg/ml und max. 0.5 mcg/ml

¹ für *E. coli*-Isolate von Hunden (UGT) gelten die Breakpoints min. 0.25 mcg/ml und max. 8 mcg/ml

² für Isolate aus dem Harntrakt gilt ein unterer Breakpoint (min.) von 2/38 mcg/ml

³ für Isolate von Hunden und Pferden gelten die Breakpoints min. 2 mcg/ml und max. 8 mcg/ml

⁴ die angegebenen Werte gelten nur für Isolate von Hunden (Haut, RT, UGT), und Katzen (Haut)

Anhang – Qualitätskontrollen

2 Qualitätskontrollen

Tabelle 24: Qualitätskontrolle der Bouillondilution anhand von ATCC 25922 *Escherichia coli* [µg/ml]

	Referenzwerte	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)								
		7.3.	12.3.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
PEN		> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
AMP	2-8	4	4	4	4	4	4	4	4	4
AMC	2/1-8/4	8/4	4/2	4/2	8/4	4/2	4/2	8/4	8/4	8/4
OXA		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
CEL	4-16	8	16	8	16	8	8	16	16	8
CEZ	1-4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
CEV	0.5-2	0.5	1	1	1	1	0.5	1	1	1
CEQ	0.03-0.12	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
CHL	2-8	4	4	8	8	8	4	8	8	8
TET	0.5-2	< 1	< 1	2	2	2	2	2	2	2
SXT	≤ 9.5/0.5	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25
ERY		> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
CLI		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
AMI	0.5-4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
GEN	0.25-1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
COL		< 0.5	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25
RIF	4-16	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
ENR	0.008-0.03	< 0.06	< 0.06	< 0.06	< 0.06	< 0.06	< 0.06	< 0.06	< 0.06	< 0.06

Tabelle 25: Qualitätskontrolle der Bouillondilution anhand von ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* [µg/ml]

	Referenzwerte	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)								
		26.2.	11.3.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
PEN		> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
AMP		> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32
AMC		> 32/16	> 32/16	> 32/16	> 32/16	> 32/16	> 32/16	> 32/16	> 32/16	> 32/16
OXA		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
CEL		> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32	> 32
CEZ		> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
CEV	512-2048	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
CEQ		< 1	4	2	4	2	2	2	4	4
CHL		> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16
TET	8-32	8	16	16	16	16	16	16	16	16
SXT	8/152-32/608	> 76/4	> 76/4	> 76/4	> 76/4	> 76/4	> 76/4	> 76/4	> 76/4	> 76/4
ERY		> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8
CLI		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
AMI	1-4	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
GEN	0.5-2	2	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
COL		1	1	1	1	1	1	1	1	1
RIF	16-64	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
ENR	1-4	1	1	2	1	1	2	1	2	1

Anhang – Qualitätskontrollen

Tabelle 26: Qualitätskontrolle der Bouillondilution anhand von ATCC 29213 *Staphylococcus aureus* [µg/ml]

	Referenzwerte	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)								
		11.3.	12.3.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
PEN	0.25-2	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.25
AMP	0.5-2	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
AMC	0.12/0.06-0.5/0.25	< 0.5 /0.25	2/1	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25
OXA	0.12-0.5	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	1	< 0.25	< 0.25
CEL	0.12-0.5	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
CEZ	0.25-1	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
CEV	0.5-2	1	1	1	1	1	1	< 0.25	1	1
CEQ	0.25-2	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
CHL	2-8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
TET	0.12-1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
SXT	≤ 9.5/0.5	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25
ERY	0.25-1	0.25	0.25	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
CLI	0.06-0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25
AMI	1-4	32	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8	< 8
GEN	0.12-1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
COL		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
RIF	0.004-0.016	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
ENR	0.03-0.12	0.125	0.125	0.25	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125	0.125

Tabelle 27: Qualitätskontrolle der Bouillondilution anhand von ATCC 29212 *Enterococcus faecalis* [µg/ml]

	Referenzwerte	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)								
		11.3	12.3.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
PEN	1-4	2	2	4	2	2	2	2	2	überwacht
AMP	0.5-2	1	1	1	1	1	1	1	1	
AMC	0.25/0.12-1/0.5	1/0.5	1/0.5	1/0.5	1/0.5	1/0.5	1/0.5	1/0.5	1/0.5	
OXA	8-32	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	
CEL		16	16	32	32	32	32	32	32	
CEZ		> 16	16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	16	
CEV		> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	> 8	
CEQ		2	2	4	4	4	4	4	4	
CHL	4-16	8	8	8	8	8	8	8	8	
TET	8-32	16	16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	> 16	
SXT	≤ 9.5/0.5	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	< 4.75 /0.25	
ERY	1-4	2	2	2	2	2	2	2	2	
CLI	4-16	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	
AMI	64-256	64	64	64	64	> 64	64	64	64	
GEN	4-16	4	4	8	8	8	8	8	4	
COL		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	
RIF	0.5-4	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	1	< 0.5	
ENR	0.12-1	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	

Anhang – Qualitätskontrollen

Tabelle 28: Qualitätskontrolle der Bouillondilution anhand von ATCC 49619 *Streptococcus pneumoniae* [$\mu\text{g/ml}$]

	Referenzwerte	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC 49619)								
		11.3.	12.3.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
PEN	0.25-1	0.5	0.5	0.5	0.25	1	0.5	1	0.5	0.5
AMP	0.06-0.25	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125
AMC	0.03/0.016-0.12/0.06	1/0.5	1/0.5	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25	< 0.5 /0.25
OXA		1	1	1	0.5	2	2	2	1	1
CEL	0.5-2	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
CEZ		< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4	< 4
CEV	0.12-0.5	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25
CEQ	0.015-0.06	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
CHL	2-8	4	< 2	< 2	< 2	8	< 2	8	8	8
TET	0.12-0.5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	4	< 1
SXT	0.12/2.4-1/19	9.5/0.5	9.5/0.5	9.5/0.5	< 4.75 /0.25	9.5/0.5	9.5/0.5	9.5/0.5	9.5/0.5	9.5/0.5
ERY	0.03-0.12	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125	< 0.125
CLI	0.03-0.12	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25	< 0.25
AMI		64	16	32	64	> 64	64	> 64	> 64	32
GEN		8	4	4	8	> 8	8	> 8	> 8	8
COL		> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4	> 4
RIF	0.015-0.006	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5	< 0.5
ENR		1	1	1	0.5	1	1	1	1	1

Anhang – Qualitätskontrollen

Tabelle 29: Qualitätskontrolle der Agardiffusion anhand von *E. coli* [mm]

	Referenz	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)								
		12.2.	15.2.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
P		0	0	0	0	0	0	0	0	0
PB		15	14	15	15	15	13	13	14	13
AMP	16-22	15	16	17	17	16	15	13	14	15
CT		14	13	14	14	14	12	12	13	13
OX	18-24	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RD	8-10	8	9	9	8	8	8	0	8	8
CEQ				24	26	25	28*	26*	25	28
KF	15-21	17	16	18	18	17	17	17	16	17
EFT	26-31	21	22	22	23	24	23	22	23	23
KZ	21-27	25	23	26	25	24	24	24	24	23
C	21-27	21	21	21	20	22	21	20	20	20
FFC	22-28	20	19	20	20		20	20	20	19
E		8	8	0	0	0	8	0	0	0
CN	19-26	20	19	19	19	19	19	20	20	20
DA		0	0	0	0	0	0	0	0	0
AK	19-26	21	20	21	21	20	20	21	20	20
TE	18-25	23	21	21	20	21	18	19	18	18
N	17-23	16	15	18	17	17	16	17	17	16
ENR	32-40	32	28	25	24	28	27	28	26	27
MAR	29-37		30	27	28	30	27	30	28	31
TIL		0	0	0	0	0	0	8	0	
AZM		16	15	15	13	15	15	17	15	16
IPM	26-32	30	26	28	26	26	27	27	27	26
AMC	18-24	22	20	21	22	20	19	20	20	20
VA		0	0	0	0	0	0	0	0	0
SXT	23-29	28	26	27	26	26	25	26	25	26
SH	21-25	22	20	22	20	21	20	21	21	21
B		0	0	0	0	0	0	0	0	0
MTZ		0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 30: Qualitätskontrolle der Agardiffusion anhand von *Ps. aeruginosa* [mm]

	Referenz	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)								
		12.2.	26.2.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
P		0	0	0	0	0	0	0	0	0
PB		14	16	16	16	15	14	14	13	14
AMP		0	0	0	0	0	0	0	0	0
CT		13	14	14	14	14	13	13	13	13
OX		0	0	0	0	0	0	0	0	0
RD		0	0	0	0	0	0	0	0	0
CEQ			20	0	24	18	23*	26*	17	28
KF		0	0	0	0	0	0	0	0	0
EFT	14-18	16	15	14	14	15	14	13	13	15
KZ		0	0	0	0	0	0	0	0	0
C		0	0	0	0	0	0	0	0	0
FFC		0	0	0	0	0	0	0	0	0
E		0	0	0	0	0	0	0	0	0
CN	16-21	20	21	20	20	19	19	19	19	20
DA		0	0	0	0	0	0	0	0	0
AK	18-26	23	24	24	24	23	23	24	23	23
TE		13	11	0	0	11	12	11	0	10
N		9	9	9	0	9	10	10	10	8
ENR	15-19	18	16	18	16	16	17	17	16	15
MAR	20-25			24	24	23	23	23	23	23
TIL		0	0	0	0	0	0	0	0	
AZM		0	0	0	0	0	9	0	0	9
IPM	20-28	24	23	24	23	22	23	23	22	23
AMC		0	0	0	0	0	0	0	0	0
VA		0	0	0	0	0	0	0	0	0
SXT		0	0	0	0	0	0	0	0	0
SH	10-14	12	12	14	14	14	14	15	14	13
B		0	0	0	0	0	0	0	0	0
MTZ		0	0	0	0	0	0	0	0	0

* anstelle von Cefquinom wurde Cefepime (Cephalosporin 4. Generation) verwendet

Anhang – Qualitätskontrollen

Tabelle 31: Qualitätskontrolle der Agardiffusion anhand von *St. aureus* [mm]

		Staphylococcus aureus (ATCC 25923)								
	Referenz	7.2.	12.2.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
P	26-37	36	36	30	28	30	32	32	30	26
PB		0	8	0	0	0	0	0	0	0
AMP	27-35	33	28	26	26	30	30	30	26	23
CT		0	0	0	0	0	0	0	0	0
OX	18-24	23	21	18	20	20	21	22	18	17
RD	26-34	30	30	26	24	26	24	27	23	24
CEQ	25-33	25		20	19	22	22	26	21	20
KF	29-37	36	29	28	30	33	32	30	30	26
EFT	27-31	30	23	16	22	25	25	26	22	21
KZ	29-35	30	21	24	26	28	28	30	26	24
C	19-26	26	22	20	21	22	21	22	20	19
FFC	22-29	25	22	20	21	22	22	22	21	20
E	22-30	21	25	18	22	25	24	25	22	20
CN	19-27	19	21	20	21	24	20	20	19	19
DA	24-30	27	24	21	21	25	24	25	21	21
AK	20-26	24	20	20	20	23	21	21	20	18
TE	24-30	19	24	20	21	24	22	22	21	20
N	18-26	21	18	20	18	20	19	19	19	16
ENR	27-31	30	25	20	24	26	25	26	22	22
MAR	24-30			18	24	26	25	25	22	21
TIL	17-21	21	18	14	16	18	19	18	17	
AZM		24	23	15	19	22	23	23	20	20
IPM		42	46	38	34	40	38	36	34	34
AMC	28-36	34	23	32	30	30	30	29	28	27
VA	17-21	18	18	19	18	18	18	18	17	17
SXT	24-32	33	31	24	24	25	30	27	25	21
SH	13-17	18	16	14	14	15	14	14	14	14
B		15	14	13	13	13	14	14	13	14
MTZ		0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabelle 32: Qualitätskontrolle der Agardiffusion anhand von *E. faecalis* [mm]

		Enterococcus faecalis (ATCC 29212)								
	Referen	12.2	27.2	8.5.	13.6	20.6	4.7.	27.8	19.9	8.10
P	Das CLSI veröffentlichte keine Referenzwerte für <i>E. faecalis</i>	21	21	20	20	20	22	20	20	19
PB		0	0	0	0	0	0	0	0	0
AMP		19	20	23	22	24	26	22	23	21
CT		0	0	0	0	0	0	0	0	0
OX		0	0	0	0	0	0	0	0	0
RD		17	18	18	17	17	16	16	16	15
CEQ			20	19	15	20	11	10	15	0
KF		14	15	16	17	18	17	14	13	14
EFT		24	24	19	23	25	23	0	0	0
KZ		17	18	17	19	19	19	15	15	12
C		18	20	21	18	18	21	19	19	16
FFC		22	23	23	20	20	22	20	21	20
E		17	18	18	17	16	19	18	20	22
CN		18	20	18	19	19	13	11	13	19
DA		0	0	0	0	0	0	0	0	24
AK		15	15	15	15	14	10	10	11	19
TE		13	13	11	12	12	11	10	10	21
N		15	15	14	14	15	11	11	12	17
ENR		23	21	23	22	22	23	22	23	23
MAR				23	22	22	20	20	22	22
TIL		0	0	0	0	0	0	0	13	
AZM		11	11	10	10	9	14	11	15	15
IPM		29	26	29	26	28	29	26	26	26
AMC		19	23	25	26	27	27	25	27	26
VA		16	16	18	16	16	17	17	18	17
SXT		25	22	27	28	29	29	26	29	23
SH	15	18	18	17	18	15	13	16	12	
B	10	11	11	10	11	14	13	15	14	
MTZ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Anhang – Qualitätskontrollen

Tabelle 33: Qualitätskontrolle der Agardiffusion anhand von *Str. pneumoniae* [mm]

	Referenz	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC 49619)								
		12.2.	27.2.	8.5.	13.6.	20.6.	4.7.	27.8.	19.9.	8.10.
P	24-30	30	32	36	36	32	30	33	28	25
PB		0	0	0	0	0	0	0	0	0
AMP	30-36	26	28	38	38	38	38	35	34	28
CT		0	0	0	0	0	0	0	0	0
OX	< 13	14	12	15	15	17	13	12	14	11
RD	25-30	27	26	26	26	23	22	27	25	20
CEQ	30-38		40	38	40	38	36*	40	35	30
KF	26-32	34	38	34	40	34	30	30	28	28
EFT		40	34	38	40	40	36	40	40	30
KZ		32	36	34	36	34	34	32	30	26
C	23-27	30	26	32	28	25	21	28	28	22
FFC	24-31	31	30	32	32	25	23	29	28	24
E	25-30	28	30	30	32	32	30	33	28	26
CN		16	12	15	13	14	9	11	12	14
DA	19-25	32	26	32	32	28	26	32	28	25
AK		13	8	13	9	10	0	0	0	11
TE	27-31	28	25	28	24	25	26	28	28	24
N		11	0	14	9	8	0	0	0	9
ENR		23	19	22	20	18	22	23	20	19
MAR				22	22	18	23	22	21	19
TIL		18	19	18	20	18	13	17	16	
AZM		30	30	30	32	26	26	29	26	23
IPM		44	44	45	45	42	44	44	38	40
AMC		36	36	44	45	38	40	42	38	30
VA	20-27	29	25	22	30	25	24	28	23	22
SXT	20-28	22	20	22	26	22	18	24	22	20
SH		17	18	20	21	19	18	18	19	16
B		17	18	18	19	18	19	19	19	18
MTZ		0	0	0	0	0	0	0	0	0

* anstelle von Cefquinom wurde Cefepime (Cephalosporin 4. Generation) verwendet

Anhang – MHK-Resultate

3 MHK-Resultate

In den folgenden Tabellen sind die Verteilungen der minimalen Hemmstoffkonzentrationen bei den im Kapitel Ergebnisse erwähnten Bakterienstämmen dargestellt. Die weissen Bereiche zeigen den Testbereich für jedes Antibiotikum an. Zahlen ausserhalb des weissen Bereichs beziehen sich auf den Anteil der Isolate, deren MHK-Werte kleiner oder grösser als die minimale oder maximale untersuchte Konzentration waren. Die Grenzwerte für resistente Keime sind als dicker grauer Strich markiert. In den letzten drei Spalten der Tabelle sind die Sensibilitäten der Stämme in Prozent angegeben, insofern Breakpoints für die Auswertung vom CLSI veröffentlicht wurden. Diese Darstellung der Resistenzsituation hat sich international durchgesetzt.

3.1 Grampositive Bakterien

Staphylococcus aureus von Hunden (n = 8)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	1	2	1	0	1	3			0	-	100
Ampicillin		1	0	0	0	0	2	1	0	1	3	0		13	-	88
Amoxicillin-Clavs.				2	0	0	0	1	2	2	1	0		38	-	63
Oxacillin			2	0	0	0	1	0	5					38	-	63
Cephalothin							3	0	2	1	2	0		63	13	25
Cefazolin							3	0	1	0	4			50	0	50
Cefovecin			1	0	0	0	1	0	1	5						
Cefquinom					3	0	1	0	1	3						
Chloramphenicol						0	0	0	4	3	1			50	38	13
Tetracyclin					6	0	0	0	0	0	2			75	0	25
Sulfamethox.-Trp ¹			6	0	1	0	0	0	1					88	0	13
Erythromycin		0	0	1	4	0	0	0	0	3				63	0	38
Clindamycin ²			5	0	0	0	0	0	3					50	0	50
Amikacin								8	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					6	0	0	0	0	2				75	0	25
Colistin				0	0	0	0	0	8							
Rifampicin				8	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ³	0	0	1	1	0	0	0	6						33	0	67
¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L) (n = 0)																
² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen anzuwenden. (n = 6)																
³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut , des Respirations- und Urogenitaltrakts zugelassen. (n = 6)																
Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.																

Anhang – MHK-Resultate

Staphylococcus aureus von Katzen (n = 3)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		1	0	0	0	0	0	0	1	1	0			33	-	67
Ampicillin		1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0		33	-	67
Amoxicillin-Clavs.				1	0	0	0	1	1	0	0	0		67	-	33
Oxacillin			1	0	0	0	0	0	2					33	-	67
Cephalothin				0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	100	0	0
Cefazolin				0	0	0	2	0	1	0	0			100	0	0
Cefovecin			0	0	0	1	0	1	0	1						
Cefquinom					2	0	0	1	0	0						
Chloramphenicol						0	0	1	2	0	0			100	0	0
Tetracyclin					3	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp ¹			3	0	0	0	0	0	0	0				100	0	0
Erythromycin		0	0	1	1	0	0	0	0	1				67	0	33
Clindamycin			2	0	0	0	0	0	1							
Amikacin								3	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					3	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	3							
Rifampicin				3	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ²	0	0	0	1	0	0	0	2						0	0	0

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L) (n = 0)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut zugelassen. (n = 0)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Staphylococcus aureus von Pferden (n = 13)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		5	0	0	0	0	1	0	2	1	4			38	-	62
Ampicillin		5	0	0	0	0	1	0	2	1	4	0		38	-	62
Amoxicillin-Clavs.				6	0	4	1	1	0	1	0	0		92	-	8
Oxacillin			8	0	2	1	1	0	1					92	-	8
Cephalothin							12	0	1	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							11	0	1	0	1			92	0	8
Cefovecin			1	0	1	7	2	0	0	2						
Cefquinom					11	0	2	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	0	11	2	0			85	15	0
Tetracyclin					10	0	0	0	0	0	3			77	0	23
Sulfamethox.-Trp			8	0	1	2	0	0	2					69	15	15
Erythromycin		0	0	0	10	0	0	0	0	3				77	0	23
Clindamycin			10	0	2	0	0	0	1							
Amikacin								12	0	1	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					7	0	0	0	0	6				54	0	46
Colistin				0	0	0	0	0	13							
Rifampicin				13	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	4	0	4	2	0	2	0	1								

Anhang – MHK-Resultate

Staphylococcus aureus von Nutztieren (n = 3)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		1	0	0	0	1	1	0	0	0	0			33	-	67
Ampicillin		1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0		33	-	67
Amoxicillin-Clavs.				3	0	0	0	0	0	0	0	0		100	-	0
Oxacillin			3	0	0	0	0	0	0					100	-	0
Cephalothin							3	0	0	0	0	0	0	100	0	0
Cefazolin							3	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefovecin			0	0	0	2	1	0	0	0						
Cefquinom					3	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	0	3	0	0			100	0	0
Tetracyclin					2	0	0	0	0	0	1			67	0	33
Sulfamethox.-Trp			3	0	0	0	0	0	0					100	0	0
Erythromycin		0	0	2	1	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin			3	0	0	0	0	0	0							
Amikacin								3	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					3	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	3							
Rifampicin				3	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	0	0	2	1	0	0	0	0								

Staphylococcus pseudintermedius vom Hund (n = 30)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		7	0	0	2	3	0	0	0	0	18			23	-	77
Ampicillin		8	0	4	0	0	0	0	0	0	16	2		40	-	60
Amoxicillin-Clavs.				11	0	0	0	0	0	13	4	1		38	-	62
Oxacillin			12	0	0	0	0	0	18					40	-	60
Cephalothin							12	0	0	1	9	8		40	3	57
Cefazolin							12	0	0	0	18			40	0	60
Cefovecin			12	0	0	0	0	0	0	18						
Cefquinom					12	0	0	0	0	18						
Chloramphenicol						0	0	3	14	0	13			57	0	43
Tetracyclin					16	0	0	0	0	0	14			53	0	47
Sulfamethox.-Trp ¹			7	0	4	1	0	0	17					38	3	59
Erythromycin		0	0	11	1	0	0	0	0	18				40	0	60
Clindamycin ²			12	0	0	0	0	0	18					50	0	50
Amikacin								30	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					12	0	0	1	1	16				43	3	53
Colistin				0	0	0	0	0	30							
Rifampicin				30	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ³	2	0	7	2	0	1	0	18						47	6	47

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von $\leq 38/2$ mg/L (n = 5)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen anzuwenden. (n = 16)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 1)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Staphylococcus pseudintermedius aus Harnproben von Hunden (n = 5)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I	R
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G		2	0	1	0	0	0	0	0	1	1			40	-	60
Ampicillin		3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0		60	-	40
Amoxicillin-Clavs.				3	0	0	1	0	0	1	0	0		80	-	20
Oxacillin			4	0	0	0	0	0	1					80	-	20
Cephalothin							4	0	0	0	1	0		80	0	20
Cefazolin							4	0	0	0	1			80	0	20
Cefovecin			3	0	0	0	0	0	1	1						
Cefquinom					4	0	0	0	0	1						
Chloramphenicol						0	0	1	3	0	1			80	0	20
Tetracyclin					3	0	0	0	0	0	2			60	0	40
Sulfamethox.-Trp			1	0	1	0	0	0	3					40	-	60
Erythromycin		0	0	3	0	0	0	0	0	2				60	0	40
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	0							
Amikacin								5	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					3	0	0	0	0	2				60	0	40
Colistin				0	0	0	0	0	5							
Rifampicin				5	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	0	0	3	0	0	0	0	2						60	0	40

Staphylococcus pseudintermedius aus Hautproben von Hunden (n = 15)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]	I [%]	R [%]	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128
Penicillin-G		5	0	0	1	1	0	0	0	0	8			33	-	67
Ampicillin		5	0	2	0	0	0	0	0	0	8	0		47	-	53
Amoxicillin-Clavs.				7	0	0	0	0	0	5	3	0		47	-	53
Oxacillin			7	0	0	0	0	0	8					47	-	53
Cephalothin							7	0	0	1	4	3		47	7	47
Cefazolin							7	0	0	0	8			47	0	53
Cefovecin			7	0	0	0	0	0	0	8						
Cefquinom					7	0	0	0	0	8						
Chloramphenicol						0	0	3	6	0	6			60	0	40
Tetracyclin					8	0	0	0	0	0	7			53	0	47
Sulfamethox.-Trp			5	0	1	1	0	0	8					40	7	53
Erythromycin		0	0	6	1	0	0	0	0	8				47	0	53
Clindamycin			7	0	0	0	0	0	8					47	0	53
Amikacin								15	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					7	0	0	0	0	8				47	0	53
Colistin				0	0	0	0	0	15							
Rifampicin				15	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	2	0	3	1	0	1	0	8						40	7	53

Anhang – MHK-Resultate

Staphylococcus (pseud)intermedius aus OP-Kontrollen und Gelenkspunktaten von Hunden (n = 7)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I	R
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	7			0	-	100
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	1		0	-	100
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	0	0	6	0	1		0	-	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	7					0	-	100
Cephalothin							0	0	0	0	4	3		0	0	100
Cefazolin							0	0	0	0	7			0	0	100
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	7						
Cefquinom					0	0	0	0	0	7						
Chloramphenicol						0	0	0	3	0	4			43	0	57
Tetracyclin					3	0	0	0	0	0	4			43	0	57
Sulfamethox.-Trp			0	0	0	0	0	0	7					0	0	100
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	7				0	0	100
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	7							
Amikacin								7	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					0	0	0	1	1	5				14	14	71
Colistin				0	0	0	0	0	7							
Rifampicin				7	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	0	0	0	0	0	0	0	7								

Staphylococcus species, koagulansenegativ aus diversen Proben verschiedener Tierarten (n = 65)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I	R
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G		37	0	3	3	3	6	7	1	0	5			57		43
Ampicillin		38	0	3	4	6	6	3	0	2	3	0		63		37
Amoxicillin-Clavs.				52	0	6	2	0	3	2	0	0		92		8
Oxacillin			24	0	26	7	1	1	6					37		63
Cephalothin							61	0	1	0	3	0		95	0	5
Cefazolin							59	0	0	2	4			91	3	6
Cefovecin			20	0	7	17	11	3	1	6						
Cefquinom					57	0	2	5	0	1						
Chloramphenicol						4	0	31	22	2	5			89	3	8
Tetracyclin					51	0	3	1	1	0	9			85	2	14
Sulfamethox.-Trp ¹			55	0	2	1"	0	0	7					88	2	11
Erythromycin		9	0	24	14	1	0	1	1	14				73	3	23
Clindamycin ²			53	1	2	4	2	0	3					86	0	14
Amikacin								65	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					52	0	3	3	1	6				89	2	9
Colistin				0	0	0	5	12	48							
Rifampicin				63	0	1	1	0	0							
Enrofloxacin ³	8	0	13	32	4	1	0	7						83	0	17

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 11)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen vom Hund anzuwenden. (n = 7)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 18)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Staphylococcus epidermidis aus Proben verschiedener Tierarten (n = 13)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		6	0	1	1	0	1	2	1	0	1			46		54
Ampicillin		7	0	0	0	1	2	2	0	1	0	0		54		46
Amoxicillin-Clavs.				8	0	3	1	0	0	1	0	0		92		8
Oxacillin			6	0	2	2	1	1	1					46		54
Cephalothin							12	0	0	0	1	0		92	0	8
Cefazolin							12	0	0	0	1			92	0	8
Cefovecin			7	0	0	2	1	1	1	1						
Cefquinom					10	0	2	0	0	1						
Chloramphenicol						1	0	6	4	1	1			85	8	8
Tetracyclin					8	0	3	0	0	0	2			85	0	15
Sulfamethox.-Trp ¹			10	0	0	0	0	0	3					77	0	23
Erythromycin		1	0	2	0	0	0	1	1	7				25	8	67
Clindamycin ²			8	1	1	0	0	0	3					67	0	33
Amikacin								13	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					8	0	0	2	1	2				77	8	15
Colistin				0	0	0	0	0	13							
Rifampicin				13	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ³	0	0	4	5	0	0	0	4						33	0	67

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 11)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen vom Hund anzuwenden. (n = 3)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 3)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Staphylococcus haemolyticus aus Proben verschiedener Tierarten (n = 7)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		3	0	0	0	1	1	0	0	0	2			43		57
Ampicillin		3	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0		43		57
Amoxicillin-Clavs.				5	0	0	0	0	1	1	0	0		71		29
Oxacillin			3	0	2	0	0	0	2					43		57
Cephalothin							5	0	0	0	2	0		71	0	29
Cefazolin							5	0	0	0	2			71	0	29
Cefovecin			0	0	0	2	2	1	0	2						
Cefquinom					5	0	0	2	0	0						
Chloramphenicol						0	0	5	2	0	0			100	0	0
Tetracyclin					5	0	0	1	1	0	0			86	14	0
Sulfamethox.-Trp ¹			4	0	1	0	0	0	2					71	0	29
Erythromycin		0	0	2	1	0	0	0	0	4				43	0	57
Clindamycin ²			6	0	0	1	0	0	0					100	0	0
Amikacin								7	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					5	0	0	0	0	2				71	0	29
Colistin				0	0	0	0	1	6							
Rifampicin				7	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ³	1	0	4	0	0	0	0	2						0	0	100

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 2)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen vom Hund anzuwenden. (n=1)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 2)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Staphylococcus felis aus Proben von Katzen (n = 7)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		7	0	0	0	0	0	0	0	0	0			100		0
Ampicillin		7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		100		0
Amoxicillin-Clavs.				7	0	0	0	0	0	0	0	0		100		0
Oxacillin			7	0	0	0	0	0	0					100		0
Cephalothin							7	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							7	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			7	0	0	0	0	0	0	0						
Cefquinom					7	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						1	0	5	1	0	0			100	0	0
Tetracyclin					7	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp ¹			6	0	1	0	0	0	0					100	0	0
Erythromycin		0	0	4	3	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin			7	0	0	0	0	0	0							
Amikacin								7	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					7	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	2	4	1							
Rifampicin				7	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ²	5	0	2	0	0	0	0	0						100	0	0

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 3)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut zugelassen. (n=4)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Staphylococcus hyicus aus Proben verschiedener Tierarten (n = 7)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		3	0	0	0	0	3	1	0	0	0			43		57
Ampicillin		3	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0		43		57
Amoxicillin-Clavs.				7	0	0	0	0	0	0	0	0		100		0
Oxacillin			2	0	5	0	0	0	0					29		71
Cephalothin							7	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							7	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			0	0	0	3	4	0	0	0						
Cefquinom					7	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	0	7	0	0			100	0	0
Tetracyclin					7	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp ¹			7	0	0	0	0	0	0					100	0	0
Erythromycin		0	0	5	2	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin ²			7	0	0	0	0	0	0							
Amikacin								7	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					7	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	7							
Rifampicin				6	0	0	1	0	0							
Enrofloxacin ³	0	0	0	6	0	0	0	1								

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 0)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen vom Hund anzuwenden. (n=0)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 0)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

<i>Staphylococcus sciuri</i> aus Proben verschiedener Tierarten (n = 7)													
Antibiotikum	MHK (mg/L)												
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
Penicillin-G		5	0	0	0	0	0	0	0	0	2		
Ampicillin		5	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	
Amoxicillin-Clavs.				5	0	0	0	0	2	0	0	0	
Oxacillin			2	0	2	1	0	0	2				
Cephalothin				0	0	0	7	0	0	0	0	0	
Cefazolin				0	0	0	5	0	0	1	1		
Cefovecin			1	0	1	2	1	0	0	2			
Cefquinom					5	0	0	2	0	0			
Chloramphenicol						1	0	3	1	0	2		
Tetracyclin					5	0	0	0	0	0	2		
Sulfamethox.-Trp ¹			5	0	0	0	0	0	2	0			
Erythromycin		3	0	2	0	0	0	0	0	2			
Clindamycin ²			2	0	1	3	1	0	0				
Amikacin								7	0	0	0	0	0
Gentamicin					5	0	0	0	0	2			
Colistin				0	0	0	1	1	5				
Rifampicin				7	0	0	0	0	0				
Enrofloxacin ³	0	0	0	4	2	1	0	0					
S [%] I [%] R [%]													
71 29 29 29 71 29 29 29 71 14 14 71 0 29 71 0 29 71 0 29 100 0 0 100 0 0 71 0 29 71 0 29 100 0 0 71 0 29 71 0 29 100 0 0 71 0 29 100 0 0													

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von $\leq 38/2$ mg/L (n = 0)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen vom Hund anzuwenden. (n=2)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 2)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

<i>Staphylococcus xylosus</i> aus Proben verschiedener Tierarten (n = 10)													
Antibiotikum	MHK (mg/L)												
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128
Penicillin-G		6	0	0	0	0	1	3	0	0	0		
Ampicillin		6	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0	
Amoxicillin-Clavs.				7	0	2	1	0	0	0	0	0	
Oxacillin			2	0	5	2	0	0	1				
Cephalothin				0	0	0	9	0	1	0	0	0	
Cefazolin				0	0	0	9	0	0	1	0		
Cefovecin			5	0	1	3	0	0	0	1			
Cefquinom					9	0	0	1	0	0			
Chloramphenicol						1	0	5	2	0	2		
Tetracyclin					6	0	0	0	0	0	4		
Sulfamethox.-Trp ¹			10	0	0	0	0	0	0	0			
Erythromycin		1	0	4	5	0	0	0	0	0			
Clindamycin ²			10	0	0	0	0	0	0	0			
Amikacin					0	0	0	10	0	0	0	0	0
Gentamicin					8	0	2	0	0	0			
Colistin				0	0	0	1	1	8				
Rifampicin				9	0	1	0	0	0				
Enrofloxacin ³	1	0	0	9	0	0	0	0					
S [%] I [%] R [%]													
60 40 40 0 20 80 100 0 0 90 10 0 80 0 20 60 0 40 100 0 0 100 0 0 100 0 0 100 0 0 100 0 0 100 0 0 100 0 0 100 0 0 100 0 0													

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von $\leq 38/2$ mg/L (n = 1)

² die angegebenen Breakpoints sind nur auf Isolate aus Haut und Weichteilen vom Hund anzuwenden. (n=1)

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 3)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Streptococcus species, β-hämolysierend aus diversen Proben verschiedener Tierarten (n = 22)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G ¹		21	0	1	0	0	0	0	0	0	0			95	5	0
Ampicillin ²		21	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		95	5	0
Amoxicillin-Clavs.				22	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			22	0	0	0	0	0	0							
Cephalothin							22	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							22	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			21	0	0	1	0	0	0	0						
Cefquinom					22	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						20	0	2	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					5	0	2	7	5	0	3			32	32	36
Sulfamethox.-Trp			20	0	0	0	0	1	0							
Erythromycin		21	0	0	0	0	0	0	0	1				95	0	5
Clindamycin			17	0	2	2	0	0	1							
Amikacin								9	0	4	9	0	0	59	41	0
Gentamicin					6	0	6	10	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	22							
Rifampicin				22	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ³	0	0	0	0	5	16	1	0						67	33	0

¹ für β-hämolysierende Str. sp. gibt es nur einen unteren Breakpoint.

² für Str. equi ssp. zooepidemicus/equi aus dem Respirationstrakt von Pferden gilt ein oberer Breakpoint von 0.5 mg/L

³ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 3)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Streptococcus equi ssp. equi von Pferden (n = 2)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Ampicillin		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Amoxicillin-Clavs.				2	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			2	0	0	0	0	0	0							
Cephalothin							2	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							2	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefovecin			2	0	0	0	0	0	0	0						
Cefquinom					2	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						2	0	0	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					2	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp			2	0	0	0	0	0	0							
Erythromycin		2	0	0	0	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin			2	0	0	0	0	0	0							
Amikacin								2	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					1	0	1	0	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	2							
Rifampicin				2	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	0	0	0	0	0	2	0	0								

Anhang – MHK-Resultate

Streptococcus equi ssp. zooepidemicus von Pferden (n = 12)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		11	0	1	0	0	0	0	0	0	0			92	8	0
Ampicillin		11	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0		92	8	0
Amoxicillin-Clavs.				12	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			12	0	0	0	0	0	0							
Cephalothin							12	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							12	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			11	0	0	1	0	0	0	0						
Cefquinom					12	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						10	0	2	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					2	0	1	6	2	0	1			25	50	25
Sulfamethox.-Trp			10	0	0	0	0	1	0							
Erythromycin		12	0	0	0	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin			8	0	2	2	0	0	0							
Amikacin								3	0	2	7	0	0	42	58	0
Gentamicin					2	0	3	7	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	12							
Rifampicin				12	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	0	0	0	0	0	11	1	0								

Streptococcus dysgalactiae ssp. equisimilis aus Proben verschiedener Tierarten (n = 4)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		4	0	0	0	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Ampicillin		4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Amoxicillin-Clavs.				4	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			4	0	0	0	0	0	0							
Cephalothin							4	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							4	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefovecin			4	0	0	0	0	0	0	0						
Cefquinom					4	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						4	0	0	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					0	0	0	1	1	0	2			0	25	75
Sulfamethox.-Trp			4	0	0	0	0	0	0							
Erythromycin		3	0	0	0	0	0	0	0	1				75	0	25
Clindamycin			3	0	0	0	0	0	1							
Amikacin								2	0	1	1	0	0	75	25	0
Gentamicin					3	0	0	1	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	4							
Rifampicin				4	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ¹	0	0	0	0	3	1	0	0						100	0	0

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 1)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Streptococcus species, α-hämolysierend aus diversen Proben verschiedener Tierarten (n = 48)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I	R
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G ¹		32	1	5	3	1	3	1	1	0	1			69	25	6
Ampicillin ²		37	0	5	2	3	1	0	0	0	0	0		88	13	0
Amoxicillin-Clavs.				46	0	2	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			25	0	8	4	1	2	8							
Cephalothin							44	0	1	2	0	1		94	4	2
Cefazolin							41	0	3	1	3			92	2	6
Cefovecin			33	0	4	2	0	1	1	7						
Cefquinom					41	0	0	3	2	2						
Chloramphenicol						15	0	18	10	0	0			77	23	0
Tetracyclin ³					20	0	5	9	4	4	6			52	19	29
Sulfamethox.-Trp			23	0	3	6	5	3	7							
Erythromycin		26	0	3	0	1	0	0	0	18				60	0	40
Clindamycin			28	0	0	0	1	0	19							
Amikacin								26	0	14	5	2	1	83	10	6
Gentamicin					22	0	19	4	1	2				94	2	4
Colistin				0	0	0	0	4	44							
Rifampicin				47	0	1	0	0	0							
Enrofloxacin ⁴	2	0	0	1	18	23	2	2						40	40	20

¹ Breakpoints eigentlich nur zugelassen für Bouillondilution mit 2-5 % lysiertem Pferdeblut-Zusatz

² für *Str. canis* gilt ein oberer Breakpoint von 0.5 mg/L

³ für *Str. suis*-Isolate aus dem RT von Schweinen gelten die Breakpoints min. 0.5 mcg/ml und max. 2 mcg/ml

⁴ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 5)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Streptococcus bovis aus Proben verschiedener Tierarten (n = 7)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S	I	R	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G ¹		7	0	0	0	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Ampicillin		7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Amoxicillin-Clavs.				7	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			5	0	2	0	0	0								
Cephalothin							7	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							7	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			7	0	0	0	0	0	0							
Cefquinom					7	0	0	0	0							
Chloramphenicol						4	0	0	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					6	0	1	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp			1	0	2	4	0	0	0							
Erythromycin		7	0	0	0	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin			7	0	0	0	0	0								
Amikacin								3	0	2	0	2	0	71	0	29
Gentamicin					2	0	3	1	1	0				86	14	0
Colistin				0	0	0	0	0	7							
Rifampicin				7	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ²	1	0	0	0	4	2	0	0								

¹ Breakpoints eigentlich nur zugelassen für Bouillondilution mit 2-5 % lysiertem Pferdeblut-Zusatz

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 0)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Streptococcus canis von Hunden und Katzen (n = 6)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I	R
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G ¹		6	0	0	0	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Ampicillin		6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		100		0
Amoxicillin-Clavs.				6	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			6	0	0	0	0	0	0							
Cephalothin							6	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							6	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			5	0	0	1	0	0	0	0						
Cefquinom					6	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						3	0	2	1	0	0			83	17	0
Tetracyclin					1	0	2	2	1	0	0			50	33	17
Sulfamethox.-Trp			6	0	0	0	0	0	0							
Erythromycin		6	0	0	0	0	0	0	0	0				100	0	0
Clindamycin			6	0	0	0	0	0	0							
Amikacin								2	0	4	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					1	0	5	0	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	6							
Rifampicin				6	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ²	0	0	0	0	2	4	0	0						50	50	0

¹ Breakpoints eigentlich nur zugelassen für Bouillondilution mit 2-5 % lysiertem Pferdeblut-Zusatz

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 4)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Streptococcus suis von Schweinen, Hund + Ratte (n = 11)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S	I	R	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G ¹		10	0	0	0	0	1	0	0	0	0			91	9	0
Ampicillin		10	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		91	9	0
Amoxicillin-Clavs.				11	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			8	0	2	0	0	1	0							
Cephalothin							11	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							11	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			10	0	1	0	0	0	0	0						
Cefquinom					11	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						4	0	7	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin ²					3	0	2	6	0	0	0			45	55	0
Sulfamethox.-Trp			11	0	0	0	0	0	0							
Erythromycin		1	0	0	0	0	0	0	0	10				9	0	91
Clindamycin			1	0	0	0	0	0	10							
Amikacin								10	0	1	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					4	0	6	1	0	0				100	0	0
Colistin				0	0	0	0	0	11							
Rifampicin				11	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin	0	0	0	0	9	1	0	1						0	0	100

Anhang – MHK-Resultate

Aerococcus viridans aus diversen Proben verschiedener Tierarten (n = 15)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]	I [%]	R [%]	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128
Penicillin-G ¹		2	1	3	3	1	2	1	1	0	1			20	60	20
Ampicillin		7	0	3	2	2	1	0	0	0	0	0		67	33	0
Amoxicillin-Clavs.				13	0	2	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			1	0	2	2	1	1	8							
Cephalothin							11	0	1	2	0	1		80	13	7
Cefazolin							8	0	3	1	3			73	7	20
Cefovecin			4	0	1	1	0	1	1	7						
Cefquinom					8	0	0	3	2	2						
Chloramphenicol						1	0	4	10	0	0			33	67	0
Tetracyclin					4	0	0	0	3	4	4			27	0	73
Sulfamethox.-Trp			2	0	1	0	2	3	7							
Erythromycin		3	0	3	0	1	0	0	0	8				40	0	60
Clindamycin			6	0	0	0	0	0	9							
Amikacin								7	0	4	4	0	0	73	27	0
Gentamicin					11	0	2	1	0	1				93	0	7
Colistin				0	0	0	0	1	14							
Rifampicin				14	0	1	0	0	0							
Enrofloxacin ²	0	0	0	1	1	11	1	1								

¹ Breakpoints eigentlich nur zugelassen für Bouillondilution mit 2-5 % lysiertem Pferdeblut-Zusatz

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 0)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Enterococcus species aus diversen Proben verschiedener Tierarten (n = 30)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	1	3	2	10	5	3	6			70		30
Ampicillin		0	0	1	2	10	8	4	0	0	1	4		83		17
Amoxicillin-Clavs.				6	0	15	4	0	0	1	1	3		83	3	13
Oxacillin			0	0	0	0	0	1	29							
Cephalothin							1	0	2	3	7	17		10	10	80
Cefazolin							1	0	1	4	24			7	13	80
Cefovecin			0	0	0	1	0	0	0	29						
Cefquinom					1	0	1	5	5	18						
Chloramphenicol						0	0	2	22	1	5			80	3	17
Tetracyclin					10	0	1	1	0	0	18			40	0	60
Sulfamethox.-Trp			22	0	1	0	0	0	6							
Erythromycin		1	0	1	3	3	7	8	0	7				17	60	23
Clindamycin			7	0	1	1	1	1	19							
Amikacin								2	0	4	4	6	14	20	13	67
Gentamicin					3	0	2	3	7	15				27	23	50
Colistin				1	0	0	0	0	29							
Rifampicin				11	0	3	3	3	10					47	10	43
Enrofloxacin ¹	1	0	0	0	4	12	3	10						0	57	43

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 7)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Enterococcus faecalis aus Proben verschiedener Tierarten (n = 11)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	1	9	1	0	0			100		0
Ampicillin		0	0	0	0	7	3	1	0	0	0	0		100		0
Amoxicillin-Clavs.				1	0	9	1	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	11							
Cephalothin							0	0	0	0	7	4		0	0	100
Cefazolin							0	0	0	1	9			0	10	90
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	11						
Cefquinom					0	0	0	5	4	2						
Chloramphenicol						0	0	0	6	0	5			55	0	45
Tetracyclin					2	0	0	0	0	0	9			18	0	82
Sulfamethox.-Trp			9	0	0	0	0	0	2							
Erythromycin		0	0	0	2	2	3	2	0	2				18	64	18
Clindamycin			0	0	0	1	0	0	10							
Amikacin								0	0	1	0	0	10	9	0	91
Gentamicin					1	0	0	0	2	8				9	18	73
Colistin				0	0	0	0	0	11							
Rifampicin				3	0	1	3	3	1					36	27	36
Enrofloxacin ¹	0	0	0	0	2	7	1	1						0	100	0

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 3)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

<i>Enterococcus faecium</i> aus Proben verschiedener Tierarten (n = 15)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I	R
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]	[%]
Penicillin-G		0	0	0	0	2	0	1	4	3	5			47		53
Ampicillin		0	0	0	1	2	5	2	0	0	1	4		67		33
Amoxicillin-Clavs.				2	0	6	2	0	0	1	1	3		67	7	27
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	15							
Cephalothin							1	0	1	1	0	12		13	7	80
Cefazolin							1	0	0	2	12			7	13	80
Cefovecin			0	0	0	1	0	0	0	14						
Cefquinom					1	0	0	0	0	14						
Chloramphenicol						0	0	2	12	1	0			93	7	0
Tetracyclin					7	0	0	0	0	0	8			47	0	53
Sulfamethox.-Trp			10	0	1	0	0	0	3							
Erythromycin		0	0	1	1	1	2	5	0	5				13	53	33
Clindamycin			6	0	1	0	0	0	8							
Amikacin								1	0	2	4	6	2	20	27	53
Gentamicin					1	0	1	3	5	5				33	33	33
Colistin				1	0	0	0	0	14							
Rifampicin				6	0	2	0	0	7					53	0	47
Enrofloxacin ¹	1	0	0	0	1	4	2	7						0	0	100

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 2)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Bacillus species aus Proben verschiedener Tierarten (n = 6)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		5	0	0	0	1	0	0	0	0	0					
Ampicillin		5	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0				
Amoxicillin-Clavs.				6	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	
Oxacillin			5	0	0	0	0	0	1							
Cephalothin							6	0	0	0	0	0	100	0	0	
Cefazolin							6	0	0	0	0		100	0	0	
Cefovecin			0	0	0	0	1	1	3	1						
Cefquinom					3	0	1	0	1	1						
Chloramphenicol						0	0	6	0	0	0		100	0	0	
Tetracyclin					5	0	0	0	0	0	1		83	0	17	
Sulfamethox.-Trp			5	0	0	0	0	0	1							
Erythromycin		6	0	0	0	0	0	0	0	0						
Clindamycin			0	0	1	2	3	0	0							
Amikacin								6	0	0	0	0	100	0	0	
Gentamicin					6	0	0	0	0	0			100	0	0	
Colistin				0	0	0	0	1	5							
Rifampicin				6	0	0	0	0	0							
Enrofloxacin ¹	5	0	0	1	0	0	0	0								

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 0)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

3.2 Gramnegative Bakterien

Escherichia coli , hämolysierend aus Harnproben von Hunden (n = 23)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]	I [%]	R [%]	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	5	18					
Ampicillin		0	0	0	0	0	9	12	0	0	0	2		91	0	9
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	3	18	1	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	23							
Cephalothin							4	0	16	2	0	1		87	9	4
Cefazolin							22	0	0	0	1			96	0	4
Cefovecin			2	0	17	3	0	0	0	1						
Cefquinom					23	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	3	18	1	1			91	4	4
Tetracyclin					10	0	12	0	0	0	1			96	0	4
Sulfamethox.-Trp			22	0	0	0	0	0	1					96	-	4
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	23						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	23							
Amikacin								21	0	1	1	0	0	96	4	0
Gentamicin					18	0	5	0	0	0				100	0	0
Colistin				23	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	2	21							
Enrofloxacin	18	0	2	2	0	0	0	1						96	0	4

Escherichia coli , hämolysierend aus Harnproben von Katzen (n = 18)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	6	12					
Ampicillin		0	0	0	0	2	5	9	0	0	0	2		89	0	11
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	4	11	3	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	18							
Cephalothin							5	0	11	2	0	0		89	11	0
Cefazolin							18	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			4	0	10	4	0	0	0	0						
Cefquinom					18	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	4	12	1	1			89	6	6
Tetracyclin					3	0	14	0	0	0	1			94	0	6
Sulfamethox.-Trp			17	0	0	0	0	0	1					94	-	6
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	18						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	18							
Amikacin								18	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					18	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				18	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	7	11							
Enrofloxacin	15	0	1	0	0	2	0	0								

Anhang – MHK-Resultate

Escherichia coli, nicht-hämolysierend aus Harnproben von Hunden (n = 18)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	18					
Ampicillin		0	0	0	0	0	2	5	2	0	0	9		50	0	50
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	3	6	4	2	1	2		72	11	17
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	18							
Cephalothin							1	0	8	5	0	4		50	28	22
Cefazolin							13	0	1	0	4			78	0	22
Cefovecin			0	0	4	8	2	0	1	3						
Cefquinom					17	0	0	0	0	1						
Chloramphenicol						0	0	1	9	5	3			56	28	17
Tetracyclin					2	0	9	0	0	0	7			61	0	39
Sulfamethox.-Trp			14	0	0	1	0	0	3					83	-	17
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	18						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	18							
Amikacin								15	0	3	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					15	0	2	0	0	1				94	0	6
Colistin				18	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	18							
Enrofloxacin	14	0	0	0	1	0	0	4						79	0	21

Escherichia coli, nicht-hämolysierend aus Harnproben von Katzen (n = 19)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	2	17					
Ampicillin		0	0	0	0	0	3	5	1	0	0	10		47	0	53
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	2	4	5	1	0	7		58	5	37
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	19							
Cephalothin							2	0	5	5	0	7		37	26	37
Cefazolin							12	0	0	0	7			63	0	37
Cefovecin			1	0	6	5	0	0	0	7						
Cefquinom					16	0	2	0	0	1						
Chloramphenicol						0	0	1	9	2	7			53	11	37
Tetracyclin					4	0	6	1	1	0	7			58	5	37
Sulfamethox.-Trp			11	0	1	0	0	0	7					63	-	37
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	19						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	19							
Amikacin								19	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					14	0	4	0	0	1				95	0	5
Colistin				19	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	1	18							
Enrofloxacin	10	0	0	0	0	0	0	9								

Anhang – MHK-Resultate

Escherichia coli, nicht-hämolysierend aus dem Urogenitaltrakt von Schwein, Rind und Schaf (n = 5)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	1		80	0	20
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	4	0	1	0	0		80	20	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	5							
Cephalothin							0	0	3	2	0	0		60	40	0
Cefazolin							5	0	0	0	0			100	0	0
Cefovecin			0	0	2	3	0	0	0	0						
Cefquinom					5	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	0	4	1	0			80	20	0
Tetracyclin					0	0	1	1	0	0	3			40	0	60
Sulfamethox.-Trp			3	0	1	0	0	0	1					80	-	20
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	5						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	5							
Amikacin								5	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					5	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				5	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	5							
Enrofloxacin	5	0	0	0	0	0	0	0								

Escherichia coli, nicht-hämolysierend von Pferden (n = 22)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	1	21					
Ampicillin		0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	18		18	0	82
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	1	5	6	2	5	3		55	9	36
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	22							
Cephalothin							3	0	4	4	0	11		32	18	50
Cefazolin							10	0	1	1	10			50	5	45
Cefovecin			1	0	6	4	1	0	0	10						
Cefquinom					16	0	0	0	2	4						
Chloramphenicol						1	0	1	8	2	10			45	9	45
Tetracyclin					0	0	7	1	0	0	14			36	0	64
Sulfamethox.-Trp ¹			4	0	0	0	0	0	18					18	0	82
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	22						
Clindamycin			0	0	0	0	0	1	21							
Amikacin								22	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					5	0	0	0	0	17				23	0	77
Colistin				22	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	22							
Enrofloxacin	8	0	0	0	6	3	0	11								

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 5)

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 5)

Anhang – MHK-Resultate

Escherichia coli, nicht-hämolysierend aus Hautproben von Pferden (n = 8)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]	I [%]	R [%]	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	8					
Ampicillin		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	7		13	0	88
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	2	1	0	2	3		38	0	63
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	8							
Cephalothin							1	0	2	0	0	5		38	0	63
Cefazolin							3	0	0	1	4			38	13	50
Cefovecin			1	0	2	0	1	0	0	4						
Cefquinom					7	0	0	0	0	1						
Chloramphenicol						1	0	0	2	1	4			38	13	50
Tetracyclin					0	0	1	1	0	0	6			25	0	75
Sulfamethox.-Trp			1	0	0	0	0	0	7					13	0	88
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	8						
Clindamycin			0	0	0	0	0	1	7							
Amikacin								8	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					1	0	0	0	0	7				13	0	88
Colistin				8	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	8							
Enrofloxacin	2	0	0	0	4	1	0	11								

Escherichia coli, nicht-hämolysierend aus dem Urogenitaltrakt von Pferden (n = 5)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4		20	0	80
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	2	1	0	2	0		60	0	40
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	5							
Cephalothin							0	0	2	0	0	3		40	0	60
Cefazolin							2	0	0	0	3			40	0	60
Cefovecin			0	0	2	0	0	0	0	3						
Cefquinom					3	0	0	0	2	0						
Chloramphenicol						0	0	1	1	1	2			40	20	40
Tetracyclin					0	0	3	0	0	0	2			60	0	40
Sulfamethox.-Trp			1	0	0	0	0	0	4					20	-	80
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	5						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	5							
Amikacin								5	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					2	0	0	0	0	3				40	0	60
Colistin				5	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	5							
Enrofloxacin	3	0	0	0	1	1	0	11								

Anhang – MHK-Resultate

Escherichia coli, nicht-hämolyisierend aus Tracheobronchialsekret von Pferden (n = 5)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4		20	0	80
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	1	3	1	0	0		80	20	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	5							
Cephalothin							1	0	0	3	0	1		20	60	20
Cefazolin							4	0	0	0	1			80	0	20
Cefovecin			0	0	0	4	0	0	0	1						
Cefquinom					4	0	0	0	0	1						
Chloramphenicol						0	0	0	3	0	2			60	0	40
Tetracyclin					0	0	2	0	0	0	3			40	0	60
Sulfamethox.-Trp			1	0	0	0	0	0	4					20	0	80
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	5						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	5							
Amikacin								5	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					1	0	0	0	0	4				20	0	80
Colistin				5	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	5							
Enrofloxacin	2	0	0	0	0	1	0	11								

andere Vertreter der Familie der <i>Enterobacteriaceae</i> aus diversen Proben verschiedener Tierarten (n = 41)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	1	0	2	1	3	34					
Ampicillin		0	0	0	0	3	3	7	3	6	1	18		39	15	46
Amoxicillin-Clavs.				0	0	4	1	11	6	5	4	9		55	13	33
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	41							
Cephalothin							9	0	7	4	2	19		39	10	51
Cefazolin							19	0	2	2	18			51	5	44
Cefovecin			10	0	4	10	7	0	1	9						
Cefquinom					31	0	2	1	2	5						
Chloramphenicol						9	0	1	15	3	13			61	7	32
Tetracyclin					12	0	9	5	4	0	11			63	10	27
Sulfamethox.-Trp ¹			30	0	1	0	0	1	9					76	0	24
Erythromycin		0	0	0	0	1	0	0	2	38						
Clindamycin			0	0	0	0	1	0	40							
Amikacin								40	0	1	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					31	0	0	0	0	10				76	0	24
Colistin				35	0	0	0	0	6							
Rifampicin				1	0	0	0	7	33							
Enrofloxacin ²	26	0	4	1	2	2	1	5						67	0	33

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 11)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 9)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Acinetobacter species aus Proben verschiedener Tierarten (n = 5)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	1	0	0	0	0	4					
Ampicillin		0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	2		20	40	40
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	1	0	1	0	2	1		40	0	60
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	5							
Cephalothin							0	0	0	0	1	4		0	0	100
Cefazolin							0	0	0	1	4			0	20	80
Cefovecin			0	0	1	0	0	0	0	4						
Cefquinom					1	0	2	0	1	1						
Chloramphenicol						1	0	0	0	0	4			20	0	80
Tetracyclin					3	0	1	0	0	0	1			80	0	20
Sulfamethox.-Trp ¹			4	0	0	0	0	0	1	0				80	0	20
Erythromycin		0	0	0	0	1	0	0	1	3						
Clindamycin			0	0	0	0	1	0	4							
Amikacin								5	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					4	0	0	0	0	1				80	0	20
Colistin				5	0	0	0	0	0							
Rifampicin				1	0	0	0	3	1							
Enrofloxacin ²	3	0	1	0	0	0	0	1								

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 2)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 0)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Enterobacter species aus Proben verschiedener Tierarten (n = 10)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]	I [%]	R [%]	
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64				128
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	10					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	7		10	20	70
Amoxicillin-Clavs.				0	0	1	0	0	1	0	2	6		20	0	80
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	10							
Cephalothin							1	0	0	0	0	9		10	0	90
Cefazolin							2	0	0	0	8			20	0	80
Cefovecin			1	0	0	3	3	0	1	2						
Cefquinom					7	0	0	1	1	1						
Chloramphenicol						1	0	1	4	0	4			60	0	40
Tetracyclin					2	0	1	3	2	0	2			60	20	20
Sulfamethox.-Trp ¹			6	0	1	0	0	1	2					70	0	30
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	10						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	10							
Amikacin								10	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					6	0	0	0	0	4				60	0	40
Colistin				9	0	0	0	0	1							
Rifampicin				0	0	0	0	0	10							
Enrofloxacin ²	6	0	0	0	0	1	1	2						50	0	50

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 4)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 2)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Klebsiella species aus Proben von Hunden und Pferden (n = 4)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	4					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3		0	25	75
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	2	0	2	0	0		50	50	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	4							
Cephalothin							1	0	1	0	0	2		50	0	50
Cefazolin							2	0	0	0	2			50	0	50
Cefovecin			0	0	0	2	0	0	0	2						
Cefquinom					2	0	0	0	0	2						
Chloramphenicol						0	0	0	2	0	2			50	0	50
Tetracyclin					0	0	2	1	0	0	1			75	0	25
Sulfamethox.-Trp ¹			2	0	0	0	0	0	2	0				50	0	50
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	4						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	4							
Amikacin								4	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					2	0	0	0	0	2				50	0	50
Colistin				4	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	4							
Enrofloxacin ²	1	0	1	0	0	0	0	2						0	0	100

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 2)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 1)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Pantoea agglomerans von Pferden (n = 6)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	3	3					
Ampicillin		0	0	0	0	0	2	3	1	0	0	0		100	0	0
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	4	2	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	6							
Cephalothin							2	0	2	2	0	0		67	33	0
Cefazolin							5	0	0	1	0			83	17	0
Cefovecin			5	0	0	1	0	0	0	0						
Cefquinom					6	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						6	0	0	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					6	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp ¹			6	0	0	0	0	0	0					100	0	0
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	6						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	6							
Amikacin								6	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					6	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				6	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	1	5							
Enrofloxacin	6	0	0	0	0	0	0	0								

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 0)

Anhang – MHK-Resultate

Proteus mirabilis von Hund, Katze und Pferd (n = 3)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	2	0	0	1					
Ampicillin		0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1		67	0	33
Amoxicillin-Clavs.				0	0	2	0	1	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	3							
Cephalothin							2	0	1	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							2	0	1	0	0			100	0	0
Cefovecin			3	0	0	0	0	0	0	0						
Cefquinom					3	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	0	2	0	1			67	0	33
Tetracyclin					0	0	0	0	0	0	3			0	0	100
Sulfamethox.-Trp ¹			2	0	0	0	0	0	1					67	0	33
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	3						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	3							
Amikacin								3	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					2	0	0	0	0	1				67	0	33
Colistin				0	0	0	0	0	3							
Rifampicin				0	0	0	0	3	0							
Enrofloxacin ²	0	0	1	1	1	0	0	0						100	0	0

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von ≤ 38/2 mg/L (n = 2)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 1)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Salmonella Typhimurium aus Kotproben von Pferden (n = 3)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	1	0	2					
Ampicillin		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2		33	0	67
Amoxicillin-Clavs.				0	0	1	0	0	0	1	0	1		33	33	33
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	3							
Cephalothin							2	0	0	0	0	1		67	0	33
Cefazolin							2	0	0	0	1			67	0	33
Cefovecin			0	0	1	1	1	0	0	0						
Cefquinom					3	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						0	0	0	1	1	1			33	33	33
Tetracyclin					0	0	1	1	0	0	1			67	0	33
Sulfamethox.-Trp			3	0	0	0	0	0	0	0				100	0	0
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	3						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	3							
Amikacin								3	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					3	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				3	0	0	0	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	3							
Enrofloxacin	2	0	0	0	1	0	0	0								

Anhang – MHK-Resultate

<i>Serratia</i> species von Pferden (n = 4)													
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	I [%]
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	4		R 25
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	50
Amoxicillin-Clavs.				0	0	1	0	1	0	1	0	1	50
Oxacillin			0	0	0	0	0	4					
Cephalothin							1	0	1	0	0	2	50
Cefazolin							2	0	0	0	2		50
Cefovecin			1	0	1	1	1	0	0	0			
Cefquinom					4	0	0	0	0	0			
Chloramphenicol						1	0	0	1	2	0		50
Tetracyclin					1	0	1	0	2	0	0		50
Sulfamethox.-Trp ¹			4	0	0	0	0	0	0				100
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	1	3			
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	4				
Amikacin								4	0	0	0	0	100
Gentamicin					4	0	0	0	0	0			100
Colistin				2	0	0	0	0	2				
Rifampicin				0	0	0	0	0	4				
Enrofloxacin	3	0	1	0	0	0	0	0					

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von $\leq 38/2$ mg/L (n = 1)

<i>Shigella</i> species von einem Hund und Pferden (n = 5)													
Antibiotikum	MHK (mg/L)												S [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	I [%]
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5		
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	2	60
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	3	2	0	0	0	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	5				
Cephalothin							0	0	2	2	0	1	40
Cefazolin							4	0	0	0	1		80
Cefovecin			0	0	1	2	1	0	0	1			
Cefquinom					4	0	0	0	0	1			
Chloramphenicol						0	0	0	4	0	1		80
Tetracyclin					0	0	3	0	0	0	2		60
Sulfamethox.-Trp			3	0	0	0	0	0	2	0			60
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	5			
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	5				
Amikacin								4	0	1	0	0	100
Gentamicin					4	0	0	0	0	1			80
Colistin				5	0	0	0	0	0				
Rifampicin				0	0	0	0	0	5				
Enrofloxacin	5	0	0	0	0	0	0	0					100

¹ für Isolate aus Harnproben gilt ein unterer Breakpoint von $\leq 38/2$ mg/L (n = 1)

² die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 1)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

Actinobacillus species aus Proben des Respirationstraktes von Pferden (n = 6)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	5	0	1	0	0	0	0	0					
Ampicillin		5	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0				
Amoxicillin-Clavs.				6	0	0	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	6							
Cephalothin							6	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefazolin							6	0	0	0	0	0		100	0	0
Cefovecin			6	0	0	0	0	0	0	0						
Cefquinom					6	0	0	0	0	0						
Chloramphenicol						6	0	0	0	0	0			100	0	0
Tetracyclin					6	0	0	0	0	0	0			100	0	0
Sulfamethox.-Trp			6	0	0	0	0	0	0							
Erythromycin		0	0	0	0	5	0	1	0	0						
Clindamycin			0	0	0	0	2	3	1							
Amikacin								6	0	0	0	0	0	100	0	0
Gentamicin					6	0	0	0	0	0				100	0	0
Colistin				6	0	0	0	0	0							
Rifampicin				5	0	0	1	0	0							
Enrofloxacin	6	0	0	0	0	0	0	0								

Pasteurella species von einem Pferd und Hunden (n = 3)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		1	0	5	0	1	0	1	0	0	0					
Ampicillin		6	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0				
Amoxicillin-Clavs.				7	0	1	0	0	0	0	0	0		100	0	0
Oxacillin			0	0	0	0	1	0	7							
Cephalothin							7	0	0	0	1	0		88	0	13
Cefazolin							7	0	0	0	1			88	0	13
Cefovecin			7	0	0	0	0	0	0	1						
Cefquinom					7	0	0	0	1	0						
Chloramphenicol						7	0	0	0	0	1			88	0	13
Tetracyclin					7	0	0	0	0	0	1			88	0	13
Sulfamethox.-Trp			8	0	0	0	0	0	0							
Erythromycin		0	0	0	0	5	2	1	0	0						
Clindamycin			0	0	0	0	2	3	3							
Amikacin								7	0	0	0	0	1	88	0	13
Gentamicin					7	0	0	0	1	0				88	13	0
Colistin				6	0	1	0	0	1							
Rifampicin				6	0	0	2	0	0							
Enrofloxacin ¹	7	0	0	0	0	1	0	0						100	0	0

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 1)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> von Hunden (n = 29)															
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	29				
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	29			
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	0	0	0	0	29		0	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	29						
Cephalothin							0	0	0	0	0	29		0	100
Cefazolin							0	0	0	0	29			0	100
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	29					
Cefquinom					0	0	7	11	6	5					
Chloramphenicol						0	0	0	0	0	29			0	100
Tetracyclin					0	0	0	0	0	3	26			0	100
Sulfamethox.-Trp			0	0	0	0	0	7	22						
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	29					
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	29						
Amikacin								25	0	2	0	0	2	93	0
Gentamicin					9	0	10	7	0	3				66	24
Colistin				6	0	18	2	0	3						
Rifampicin				0	0	0	0	0	29						
Enrofloxacin ¹	0	0	0	0	3	17	3	6						16	58

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 18)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> aus Hautproben von Hunden (n = 16)															
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S	I
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	[%]	[%]
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	16				
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16			
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	0	0	0	0	16		0	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	16						
Cephalothin							0	0	0	0	0	16		0	100
Cefazolin							0	0	0	0	16			0	100
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	16					
Cefquinom					0	0	2	7	5	2					
Chloramphenicol						0	0	0	0	0	16			0	100
Tetracyclin					0	0	0	0	0	2	14			0	100
Sulfamethox.-Trp			0	0	0	0	0	3	13						
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	16					
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	16						
Amikacin								15	0	0	0	0	1	94	0
Gentamicin					8	0	5	2	0	1				81	13
Colistin				5	0	10	1	0	0						
Rifampicin				0	0	0	0	0	16						
Enrofloxacin	0	0	0	0	3	7	1	5						19	50

Anhang – MHK-Resultate

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> aus OP-Kontrollen und Gelenkspunktaten von Hunden (n = 10)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	10					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10				
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	0	0	0	0	10		0	0	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	10							
Cephalothin							0	0	0	0	0	10		0	0	100
Cefazolin							0	0	0	0	0	10		0	0	100
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	10						
Cefquinom					0	0	3	3	1	3						
Chloramphenicol						0	0	0	0	0	10			0	0	100
Tetracyclin					0	0	0	0	0	1	9			0	0	100
Sulfamethox.-Trp			0	0	0	0	0	2	8							
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	10						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	10							
Amikacin								7	0	2	0	0	1	90	0	10
Gentamicin					1	0	4	3	0	2				50	30	20
Colistin				1	0	6	1	0	2							
Rifampicin				0	0	0	0	0	10							
Enrofloxacin	0	0	0	0	0	8	1	1								

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> von Katzen (n = 11)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	11					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11				
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	0	0	0	0	11		0	0	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	11							
Cephalothin							0	0	0	0	0	11		0	0	100
Cefazolin							0	0	0	0	11			0	0	100
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	11						
Cefquinom					0	0	4	1	3	3						
Chloramphenicol						0	0	0	0	0	11			0	0	100
Tetracyclin					0	0	0	0	0	3	8			0	0	100
Sulfamethox.-Trp			0	0	0	0	0	3	8							
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	11						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	11							
Amikacin								9	0	0	1	0	1	82	9	9
Gentamicin					1	0	7	1	1	1				73	9	18
Colistin				0	0	8	2	0	1							
Rifampicin				0	0	0	0	0	11							
Enrofloxacin ¹	0	0	0	0	2	5	4	0						100	0	0

¹ die angegebenen Breakpoints sind nur für Isolate aus Proben der Haut von Hunden und Katzen sowie des Respirations- und Urogenitaltrakts von Hunden zugelassen. (n = 2)

Es sind alle Isolate aufgeführt, ausgewertet wurden aber nur die Resultate der entsprechenden Proben.

Anhang – MHK-Resultate

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> von Pferden (n = 5)																
Antibiotikum	MHK (mg/L)													S [%]	I [%]	R [%]
	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128			
Penicillin-G		0	0	0	0	0	0	0	0	0	5					
Ampicillin		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5				
Amoxicillin-Clavs.				0	0	0	0	0	0	0	0	5		0	0	100
Oxacillin			0	0	0	0	0	0	5							
Cephalothin							0	0	0	0	0	5		0	0	100
Cefazolin							0	0	0	0	5			0	0	100
Cefovecin			0	0	0	0	0	0	0	5						
Cefquinom					0	0	0	1	2	2						
Chloramphenicol						0	0	0	0	0	5			0	0	100
Tetracyclin					0	0	0	0	1	1	3			0	20	80
Sulfamethox.-Trp			0	0	0	0	0	3	2							
Erythromycin		0	0	0	0	0	0	0	0	5						
Clindamycin			0	0	0	0	0	0	5							
Amikacin								3	0	0	0	2	0	60	0	40
Gentamicin					1	0	1	1	0	2				40	20	40
Colistin				3	0	1	1	0	0							
Rifampicin				0	0	0	0	0	5							
Enrofloxacin	0	0	0	0	0	3	1	1								

Literaturverzeichnis

1. Levy SB: *The Antibiotic Paradox - How Miracle Drugs Are Destroying the Miracle*. New York: Plenum Press, Plenum Publishing Corporation; 1992.
2. van Miert AS: **The sulfonamide-diaminopyrimidine story**. *J Vet Pharmacol Ther* 1994, **17**:309-316.
3. Bol P: **[Two chapters from the medical history of this century: antibacterial therapy]**. *Ned Tijdschr Geneesk* 1999, **143**:365-369.
4. Zetterström R: **Selman A. Waksman (1888-1973) Nobel Prize in 1952 for the discovery of streptomycin, the first antibiotic effective against tuberculosis**. *Acta Paediatr* 2007, **96**:317-319.
5. Finch R, Hunter PA: **Antibiotic resistance—action to promote new technologies: report of an EU Intergovernmental Conference held in Birmingham, UK, 12-13 December 2005**. *J Antimicrob Chemother* 2006, **58 Suppl 1**:i3-i22.
6. Swartz MN: **Impact of antimicrobial agents and chemotherapy from 1972 to 1998**. *Antimicrob Agents Chemother* 2000, **44**:2009-2016.
7. Samaranayake LP, Johnson NW: **Guidelines for the use of antimicrobial agents to minimise development of resistance**. *Int Dent J* 1999, **49**:189-195.
8. Holmes JH, Metlay J, Holmes WC, Mikanatha N: **Developing a patient intervention to reduce antibiotic overuse**. *AMIA Annu Symp Proc* 2003:864.
9. Nicolle LE, Huchcroft SA, Cruse PJ: **Risk factors for surgical wound infection among the elderly**. *J Clin Epidemiol* 1992, **45**:357-364.
10. Krüger A: **Einfluss der Antibiotikaapplikation und ihre adversen Effekte auf den perioperativen Verlauf sowie auf die Frakturheilung bei Schwerverletzten nach Osteosynthesen an langen Röhrenknochen - Etablierung eines Tiermodells -**. Philipps-Universität, Medizinisches Zentrum für operative Medizin; 2005.
11. Schwarz S, Chaslus-Dancla E: **Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance**. *Vet Res* 2001, **32**:201-225.
12. Rosengren LB, Waldner CL, Reid-Smith RJ, Valdivieso-Garcia A: **Associations between antimicrobial exposure and resistance in fecal *Campylobacter* spp. from grow-finish pigs on-farm in Alberta and Saskatchewan, Canada**. *J Food Prot* 2009, **72**:482-489.
13. Commission E: **Verbot von Antibiotika als Wachstumsförderer in Futtermitteln tritt in Kraft**. (Europäisches Parlament und Rat B ed. pp. 2; 22. Dezember 2005:2.
14. Baker R: **Health management with reduced antibiotic use - the U.S. experience**. *Anim Biotechnol* 2006, **17**:195-205.
15. Lorian V: *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 4 edn. Baltimore, Maryland, USA: Williams & Wilkins; 1996.
16. Nodwell JR: **Novel links between antibiotic resistance and antibiotic production**. *J Bacteriol* 2007, **189**:3683-3685.
17. Battermann A: **Charakterisierung von Plasmiden aus einer Gemeinschaft von Bodenbakterien mit dem Schwerpunkt auf dem genetischen Potential für konjugativen Gentransfer**. *rer. nat.* Bielefeld, Fakultät für Biologie; 2002.
18. Benveniste R, Davies J: **Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria**. *Annu Rev Biochem* 1973, **42**:471-506.
19. Beltrametti F, Consolandi A, Carrano L, Bagatin F, Rossi R, Leoni L, Zennaro E, Selva E, Marinelli F: **Resistance to glycopeptide antibiotics in the teicoplanin producer is mediated by van gene homologue expression directing the synthesis of a modified cell wall peptidoglycan**. *Antimicrob Agents Chemother* 2007, **51**:1135-1141.
20. Franklin TJ, Cook JM: **R factor with a mutation in the tetracycline resistance marker**. *Nature* 1971, **229**:273-274.
21. Li XZ, Livermore DM, Nikaido H: **Role of efflux pump(s) in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: resistance to tetracycline, chloramphenicol, and norfloxacin**. *Antimicrob Agents Chemother* 1994, **38**:1732-1741.
22. Pfeifer Y: **ESBL und AmpC: Beta-Laktamasen als eine Hauptursache der Cephalosporin-Resistenz bei Enterobakterien**. *Epidemiologisches Bulletin, Robert Koch Institut* 2007.
23. Duez C, Zorzi W, Sapunovic F, Amoroso A, Thamm I, Coyette J: **The penicillin resistance of *Enterococcus faecalis* JH2-2r results from an overproduction of the low-affinity penicillin-**

- binding protein PBP4 and does not involve a psr-like gene.** *Microbiology* 2001, **147**:2561-2569.
24. Hamzehpour MM, Pechere JC, Plesiat P, Kohler T: **OprK and OprM define two genetically distinct multidrug efflux systems in *Pseudomonas aeruginosa*.** *Antimicrob Agents Chemother* 1995, **39**:2392-2396.
 25. Cirz RT, Romesberg FE: **Induction and inhibition of ciprofloxacin resistance-conferring mutations in hypermutator bacteria.** *Antimicrob Agents Chemother* 2006, **50**:220-225.
 26. Pamp SJ, Gjermansen M, Johansen HK, Tolker-Nielsen T: **Tolerance to the antimicrobial peptide colistin in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms is linked to metabolically active cells, and depends on the pmr and mexAB-oprM genes.** *Mol Microbiol* 2008, **68**:223-240.
 27. Bern AKdU: **Infektionen trotz Antibiotika immer häufiger.** 12. 4. 2007.
 28. 49 motN: **National Research Programme NRP 49, Antibiotic Resistance, Final Report.** *Swiss National Science Foundation* 2007:67.
 29. Bern AKdU: **Infektionen trotz Antibiotika immer häufiger.** 12.4.2007.
 30. Pittet D, Harbarth S, Ruef C, Francioli P, Sudre P, Pignat C, Trampuz A, Widmer A: **Prevalence and risk factors for nosocomial infections in four university hospitals in Switzerland.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999, **20**:37-42.
 31. Harbarth S, Ruef C, Francioli P, Widmer A, Pittet D: **Nosocomial infections in Swiss university hospitals: a multi-centre survey and review of the published experience.** *Swiss-Noso Network. Schweiz Med Wochenschr* 1999, **129**:1521-1528.
 32. Sax H: **[Nationwide surveillance of nosocomial infections in Switzerland—methods and results of the Swiss Nosocomial Infection Prevalence Studies (SNIP) in 1999 and 2002].** *Ther Umsch* 2004, **61**:197-203.
 33. Sax H, Pittet D: **Interhospital differences in nosocomial infection rates: importance of case-mix adjustment.** *Arch Intern Med* 2002, **162**:2437-2442.
 34. Ebnöther C, Tanner B, Schmid F, La Rocca V, Heinzer I, Bregenzer T: **Impact of an infection control program on the prevalence of nosocomial infections at a tertiary care center in Switzerland.** *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008, **29**:38-43.
 35. U. Ledergerber EdL: **Antibiotikaresistenz.** *BVET-Magazin* 2007, **3**:2007.
 36. Sabina Büttner MK, ZOBA: **Antibiotikaresistenzmonitoring 2007 -Jahresbericht-.** (EVD EV ed.: Bundesamt für Veterinärwesen BVET; 2007.
 37. Nitzsche S, Zweifel C, Stephan R: **Phenotypic and genotypic traits of *Staphylococcus aureus* strains isolated from pig carcasses.** *Vet Microbiol* 2007, **120**:292-299.
 38. Thomas R. Shryock MA, Ronald N. Jones, Donald H. Lein, Clyde Thornsberry, Robert D. Walker, Jeffrey L. Watts, David G. White, Ching Ching Wu: *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard – Second Edition.* 2 edn. Wayne, Pennsylvania, USA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
 39. Matthew A. Wikler FRC, William A. Craig, Michael N. Dudley, George M. Eliopoulos, David W. Hecht, Janet F. Hindler, Donald E. Low, Daniel J. Sheehan, Fred C. Tenover, John D. Turnidge, Melvin P. Weinstein, Barbara L. Zimmer, Mary Jane Ferraro, Jana M. Swenson: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement.* 17 edn. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
 40. Watts JL, Yancey RJ, Jr.: **Identification of veterinary pathogens by use of commercial identification systems and new trends in antimicrobial susceptibility testing of veterinary pathogens.** *Clin Microbiol Rev* 1994, **7**:346-356.
 41. Matthew A. Wikler FRC, William A. Craig, Michael N. Dudley, George M. Eliopoulos, David W. Hecht, Janet F. Hindler, Donald E. Low, Daniel J. Sheehan, Fred C. Tenover, John D. Turnidge, Melvin P. Weinstein, Barbara L. Zimmer, Mary Jane Ferraro, Jana M. Swenson: *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard – Seventh Edition* Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
 42. A. W. Bauer WMMK, J. C. Sherris, M. Turck: **Antibiotic susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method.** *American Journal of Clinical Pathology* 1966.
 43. Bolmström A: **A novel technique for direct quantification of antimicrobial susceptibility of microorganisms.** In *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)*; 1988.

44. Jacobs MR, Bajaksouzian S, Appelbaum PC, Bolmstrom A: **Evaluation of the E-Test for susceptibility testing of pneumococci.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992, **15**:473-478.
45. Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C: **Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria.** *J Clin Microbiol* 1991, **29**:533-538.
46. Joyce LF, Downes J, Stockman K, Andrew JH: **Comparison of five methods, including the PDM Epsilon meter test (E test), for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa*.** *J Clin Microbiol* 1992, **30**:2709-2713.
47. Gavan TL, Town MA: **A microdilution method for antibiotic susceptibility testing: an evaluation.** *Am J Clin Pathol* 1970, **53**:880-885.
48. Barry AL, Jones RN, Gavan TL: **Evaluation of the micro-media system for quantitative antimicrobial drug susceptibility testing: a collaborative study.** *Antimicrob Agents Chemother* 1978, **13**:61-69.
49. Henry D, Kunzer L, Ngui-Yen J, Smith J: **Comparative evaluation of four systems for determining susceptibility of gram-positive organisms.** *J Clin Microbiol* 1986, **23**:718-724.
50. Backes BA, Cavalieri SJ, Rudrik JT, Britt EM: **Rapid antimicrobial susceptibility testing of Gram-negative clinical isolates with the AutoMicrobic system.** *J Clin Microbiol* 1984, **19**:744-747.
51. Hindler JA, Bruckner DA: **Evaluation of the AutoMicrobic system for susceptibility testing of aminoglycosides and gram-negative bacilli.** *J Clin Microbiol* 1987, **25**:546-550.
52. Woolfrey BF, Lally RT, Ederer MN, Quall CO: **Evaluation of the automicrobic system for susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* to gentamicin, tobramycin, and amikacin.** *J Clin Microbiol* 1984, **19**:502-505.
53. Johnson JE, Jorgensen JH, Crawford SA, Redding JS, Pruneda RC: **Comparison of two automated instrument systems for rapid susceptibility testing of gram-negative bacilli.** *J Clin Microbiol* 1983, **18**:1301-1309.
54. Stone ND, O'Hara CM, Williams PP, McGowan JE, Jr., Tenover FC: **Comparison of disk diffusion, VITEK 2, and broth microdilution antimicrobial susceptibility test results for unusual species of Enterobacteriaceae.** *J Clin Microbiol* 2007, **45**:340-346.
55. Staneck JL, Glenn S, DiPersio JR, Leist PA: **Wide variability in *Pseudomonas aeruginosa* aminoglycoside results among seven susceptibility testing procedures.** *J Clin Microbiol* 1989, **27**:2277-2285.
56. Staneck JL, Allen SD, Harris EE, Tilton RC: **Rapid MIC testing with the sensititre autoreader.** *J Clin Microbiol* 1988, **26**:1-7.
57. Nolte FS, Krisher KK, Beltran LA, Christianson NP, Sheridan GE: **Rapid and overnight microdilution antibiotic susceptibility testing with the Sensititre Breakpoint Autoreader system.** *J Clin Microbiol* 1988, **26**:1079-1084.
58. Doern GV, Staneck JL, Needham C, Tubert T: **Sensititre autoreader for same-day breakpoint broth microdilution susceptibility testing of members of the family Enterobacteriaceae.** *J Clin Microbiol* 1987, **25**:1481-1485.
59. Papp JR, Muckle CA: **Antimicrobial susceptibility testing of veterinary clinical isolates with the Sceptor System.** *J Clin Microbiol* 1991, **29**:1249-1251.
60. Thornsberry C, Anhalt JP, Washington JA, 2nd, McCarthy LR, Schoenknecht FD, Sherris JC, Spencer HJ: **Clinical laboratory evaluation of the Abbott MS-2 automated antimicrobial susceptibility testing system: report of a collaborative study.** *J Clin Microbiol* 1980, **12**:375-390.
61. Jorgensen JH, McElmeel ML, Crawford SA: **Evaluation of the Dade MicroScan MICroSTREP antimicrobial susceptibility testing panel with selected *Streptococcus pneumoniae* challenge strains and recent clinical isolates.** *J Clin Microbiol* 1998, **36**:788-791.
62. Chaitram JM, Jevitt LA, Lary S, Tenover FC: **The World Health Organization's External Quality Assurance System Proficiency Testing Program has improved the accuracy of antimicrobial susceptibility testing and reporting among participating laboratories using NCCLS methods.** *J Clin Microbiol* 2003, **41**:2372-2377.
63. Drancourt M, Raoult D: **Sequence-based identification of new bacteria: a proposition for creation of an orphan bacterium repository.** *J Clin Microbiol* 2005, **43**:4311-4315.
64. Jeffrey L, Watts TRS, Michael Apley, Donald J. Bade, Steven D. Brown, Jeffrey T. Gray, Henry Heine, Rob P. Hunter, Dik J. Mevius, Mark G. Papich, Peter Silley, Gary E. Zurenko: *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from*

- Animals; Approved Standard – Third Edition*. 3 edn. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
65. Matthew A. Wikler FRC, William A. Craig, Michael N. Dudley, George M. Eliopoulos, David W. Hecht, Janet F. Hindler, Donald E. Low, Daniel J. Sheehan, Fred C. Tenover, John D. Turnidge, Melvin P. Weinstein, Barbara L. Zimmer, Mary Jane Ferraro, Jana M. Swenson: *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard – Ninth Edition* Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
 66. Luhofer G, Bottner A, Hafez HM, Kaske M, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Krabisch P, Kuhn T, et al: **[Proposals of the working group "Antibiotic resistance" for the configuration of microtitre plates to be used in routine antimicrobial susceptibility testing of bacterial pathogens from infections of large food-producing animals and mastitis cases]**. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 2004, **117**:245-251.
 67. Werckenthin C, Luhofer G, Bottner A, Gangl A, Goossens L, Hafez HM, Hartmann K, Kaske M, Kehrenberg C, Kietzmann M, et al: **[Layout proposal for a microtitre plate to be used in routine antimicrobial susceptibility testing of bacteria from infections of dogs and cats]**. *Berl Münch Tierärztl Wochenschr* 2008, **121**:19-26.
 68. Sasaki T, Kikuchi K, Tanaka Y, Takahashi N, Kamata S, Hiramatsu K: **Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital**. *J Clin Microbiol* 2007, **45**:1118-1125.
 69. Devriese LA, Vancanneyt M, Baele M, Vaneechoutte M, De Graef E, Snauwaert C, Cleenwerck I, Dawyndt P, Swings J, Decostere A, Haesebrouck F: ***Staphylococcus pseudintermedius* sp. nov., a coagulase-positive species from animals**. *Int J Syst Evol Microbiol* 2005, **55**:1569-1573.
 70. Van Hoovels L, Vankeerberghen A, Boel A, Van Vaerenbergh K, De Beenhouwer H: **First case of *Staphylococcus pseudintermedius* infection in a human**. *J Clin Microbiol* 2006, **44**:4609-4612.
 71. Prescott JF, Gannon VP, Kittler G, Hlywka G: **Antimicrobial Drug Susceptibility of Bacteria Isolated from Disease Processes in Cattle, Horses, Dogs and Cats**. *Can Vet J* 1984, **25**:289-292.
 72. Hariharan H, Barnum DA: **Antimicrobial drug susceptibility of certain bacterial pathogens from dogs and cats**. *Can Vet J* 1974, **15**:108-113.
 73. Hariharan H, Barnum DA, Mitchell WR: **Drug resistance among pathogenic bacteria from animals in Ontario**. *Can J Comp Med* 1974, **38**:213-221.
 74. Hariharan H, McPhee L, Heaney S, Bryenton J: **Antimicrobial drug susceptibility of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa***. *Can Vet J* 1995, **36**:166-168.
 75. Hariharan H, Coles M, Poole D, Lund L, Page R: **Update on antimicrobial susceptibilities of bacterial isolates from canine and feline otitis externa**. *Can Vet J* 2006, **47**:253-255.
 76. Seol B, Naglic T, Madic J, Bedekovic M: **In vitro antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents**. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2002, **49**:188-192.
 77. Delignette-Muller ML, Flandrois JP: **An accurate diffusion method for determining bacterial sensitivity to antibiotics**. *J Antimicrob Chemother* 1994, **34**:73-81.
 78. Hedges AJ: **The influence of factors affecting the 'critical population' density of inocula on the determination of bacterial susceptibility to antibiotics by disc diffusion methods**. *J Antimicrob Chemother* 1999, **43**:313.
 79. Lestari ES, Severin JA, Filius PM, Kuntaman K, Offra Duerink D, Hadi U, Wahjono H, Verbrugh HA: **Comparison of the accuracy of disk diffusion zone diameters obtained by manual zone measurements to that by automated zone measurements to determine antimicrobial susceptibility**. *J Microbiol Methods* 2008, **75**:177-181.
 80. Cox HU, Luther DG: **Determination of antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* by disk diffusion and microdilution methods**. *Am J Vet Res* 1980, **41**:906-909.
 81. Mendes CM, Sinto SI, Oplustil CP: **In vitro susceptibility of gram-positive cocci isolated from skin and respiratory tract to azithromycin and twelve other antimicrobial agents**. *Braz J Infect Dis* 2001, **5**:269-276.
 82. Sader HS, Ferraro MJ, Reller LB, Schreckenberger PC, Swenson JM, Jones RN: **Reevaluation of Clinical and Laboratory Standards Institute disk diffusion breakpoints for tetracyclines for testing *Enterobacteriaceae***. *J Clin Microbiol* 2007, **45**:1640-1643.

83. Burns JL, Saiman L, Whittier S, Larone D, Krzewinski J, Liu Z, Marshall SA, Jones RN: **Comparison of agar diffusion methodologies for antimicrobial susceptibility testing of *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients.** *J Clin Microbiol* 2000, **38**:1818-1822.
84. Lynch JA, Kierstead ME: **Quality Control Performance in a Provincial Veterinary Diagnostic Microbiology Laboratory System.** *Can Vet J* 1986, **27**:146-149.
85. Wallmann J, Bottner A, Hafez HM, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Krabisch P, Kuhn T, Luhofer G, et al: **Results from a German interlaboratory test to establish the broth microdilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of bacteria from animals.** *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005, **118**:205-213.
86. Wallmann J, Bottner A, Goossens L, Hafez HM, Hartmann K, Kaspar H, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, et al: **Results of an interlaboratory test on antimicrobial susceptibility testing of bacteria from animals by broth microdilution.** *Int J Antimicrob Agents* 2006, **27**:482-490.
87. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit B, Paul-Ehrlich Gesellschaft für Chemotherapie e.V., Rheinbach, Infektiologie Freiburg, Feiburg: **GERMAP 2008 Antibiotikaresistenz und-Verbrauch, Bericht über den Antibiotikaverbrauch und die Verbreitung von Antibiotikaresistenzen in der Human- und Veterinärmedizin in Deutschland.** (Lebensmittelsicherheit BfV ed. pp. 159: Antiinfectives Intelligence, Gesellschaft für klinisch-mikrobiologische Forschung und Kommunikation mbH; 2008:159.
88. Lloyd DH: **Reservoirs of antimicrobial resistance in pet animals.** *Clin Infect Dis* 2007, **45 Suppl 2**:S148-152.
89. Craig WA: **Qualitative susceptibility tests versus quantitative MIC tests.** *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993, **16**:231-236.
90. Gould IM: **Towards a common susceptibility testing method?** *J Antimicrob Chemother* 2000, **45**:757-762.
91. Canton R, Alos JL, Baquero F, Calvo J, Campos J, Castillo J, Cercenado E, Dominguez MA, Linares J, Lopez-Cerezo L, et al: **[Recommendations for selecting antimicrobial agents for in vitro susceptibility studies using automatic and semiautomatic systems].** *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2007, **25**:394-400.
92. R. P. Griffiths CLM, B. A. Caldwell, C. Ye and R. Y. Morita: **Long-term starvation-induced loss of antibiotic resistance in bacteria.** *Microbial Ecology* 1990, **Volume 19, Number 3.**
93. **SEARCH (Sentinel Surveillance of Antibiotic Resistance in Switzerland)** [www.search.ifik.unibe.ch]
94. Ling GV, Rohrich PJ, Ruby AL, Johnson DL, Jang SS: **Canine urinary tract infections: a comparison of in vitro antimicrobial susceptibility test results and response to oral therapy with ampicillin or with trimethoprim-sulfa.** *J Am Vet Med Assoc* 1984, **185**:277-281.
95. Lin AE, Davies JE: **Occurrence of highly fluoroquinolone-resistant and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in domestic animals.** *Can J Microbiol* 2007, **53**:925-929.
96. Grinberg A, Kingsbury DD, Gibson IR, Kirby BM, Mack HJ, Morrison D: **Clinically overt infections with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals in New Zealand: a pilot study.** *N Z Vet J* 2008, **56**:237-242.
97. Prescott JF, Hanna WJ, Reid-Smith R, Drost K: **Antimicrobial drug use and resistance in dogs.** *Can Vet J* 2002, **43**:107-116.
98. Snyder JR, Pascoe JR, Hirsh DC: **Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from equine orthopedic patients.** *Vet Surg* 1987, **16**:197-201.
99. Schwarz S, Alesik E, Werckenthin C, Grobbel M, Lubke-Becker A, Wieler LH, Wallmann J: **Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive and coagulase-variable *Staphylococci* from various indications of swine, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006.** *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007, **120**:372-379.
100. Sampimon OC, Vernooij JC, Mevius DJ, Sol J: **[Sensitivity to various antibiotics of coagulase-negative staphylococci isolated from samples of milk from Dutch dairy cattle].** *Tijdschr Diergeneeskde* 2007, **132**:200-204.
101. Sawant AA, Gillespie BE, Oliver SP: **Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococcus* species isolated from bovine milk.** *Vet Microbiol* 2009, **134**:73-81.
102. Clark C, Greenwood S, Boison JO, Chirino-Trejo M, Dowling PM: **Bacterial isolates from equine infections in western Canada (1998-2003).** *Can Vet J* 2008, **49**:153-160.

103. Cerda-Zolezzi P, Goni-Cepero P, Millan-Laplana L, Rubio-Calvo C, Duran E, Oca M, Gomez-Lus R: **[Susceptibility to betalactam antibiotics, glycopeptides and aminoglycosides in commensal strains of erythromycin-resistant alpha-hemolytic streptococci and Gemella spp]**. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008, **26**:4-9.
104. Çetin Meryem O, Ertunç Devrim: **An unusual case of urinary tract infection caused by Aerococcus viridans**. *ANKEM Derg* 2007, **21**(1):65-67.
105. Cerda Zolezzi P, Laplana LM, Calvo CR, Cepero PG, Erazo MC, Gomez-Lus R: **Molecular basis of resistance to macrolides and other antibiotics in commensal viridans group streptococci and Gemella spp. and transfer of resistance genes to Streptococcus pneumoniae**. *Antimicrob Agents Chemother* 2004, **48**:3462-3467.
106. Colman G: **Aerococcus-like organisms isolated from human infections**. *J Clin Pathol* 1967, **20**:294-297.
107. Augustine T, Thirunavukkarasu, Bhat BV, Bhatia BD: **Aerococcus viridans endocarditis. Case report**. *Indian Pediatr* 1994, **31**:599-601.
108. Nasoodi A, Ali AG, Gray WJ, Hedderwick SA: **Spondylodiscitis due to Aerococcus viridans**. *J Med Microbiol* 2008, **57**:532-533.
109. Moellering RC, Jr., Korzeniowski OM, Sande MA, Wennersten CB: **Species-specific resistance to antimicrobial synergism in Streptococcus faecium and Streptococcus faecalis**. *J Infect Dis* 1979, **140**:203-208.
110. Poeta P, Costa D, Saenz Y, Klibi N, Ruiz-Larrea F, Rodrigues J, Torres C: **Characterization of antibiotic resistance genes and virulence factors in faecal enterococci of wild animals in Portugal**. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* 2005, **52**:396-402.
111. Hershberger E, Oprea SF, Donabedian SM, Perri M, Bozigar P, Bartlett P, Zervos MJ: **Epidemiology of antimicrobial resistance in enterococci of animal origin**. *J Antimicrob Chemother* 2005, **55**:127-130.
112. Piatti G, Mannini A, Balistreri M, Schito AM: **Virulence factors in urinary Escherichia coli strains: phylogenetic background and quinolone and fluoroquinolone resistance**. *J Clin Microbiol* 2008, **46**:480-487.
113. Ogeer-Gyles J, Mathews KA, Sears W, Prescott JF, Weese JS, Boerlin P: **Development of antimicrobial drug resistance in rectal Escherichia coli isolates from dogs hospitalized in an intensive care unit**. *J Am Vet Med Assoc* 2006, **229**:694-699.
114. Usein CR, Tatu-Chitoiu D, Nica M, Ciontea SA, Palade AM, Condei M, Damian M: **Characteristics of Romanian fluoroquinolone-resistant human clinical Escherichia coli isolates**. *Roum Arch Microbiol Immunol* 2008, **67**:23-29.
115. Ball KR, Rubin JE, Chirino-Trejo M, Dowling PM: **Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002-2007**. *Can Vet J* 2008, **49**:985-990.
116. Kadlec K, Schwarz S: **Analysis and distribution of class 1 and class 2 integrons and associated gene cassettes among Escherichia coli isolates from swine, horses, cats and dogs collected in the BfT-GermVet monitoring study**. *J Antimicrob Chemother* 2008, **62**:469-473.
117. Grobbel M, Lubke-Becker A, Alesik E, Schwarz S, Wallmann J, Werckenthin C, Wieler LH: **Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006**. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007, **120**:391-401.
118. Dunowska M, Morley PS, Traub-Dargatz JL, Hyatt DR, Dargatz DA: **Impact of hospitalization and antimicrobial drug administration on antimicrobial susceptibility patterns of commensal Escherichia coli isolated from the feces of horses**. *J Am Vet Med Assoc* 2006, **228**:1909-1917.
119. Koterba A, Torchia J, Silverthorne C, Ramphal R, Merritt AM, Manucy J: **Nosocomial infections and bacterial antibiotic resistance in a university equine hospital**. *J Am Vet Med Assoc* 1986, **189**:185-191.
120. Ma L, Matsuo H, Ishii Y, Yamaguchi K: **Characterization of cefotaxime-resistant Escherichia coli isolates from a nosocomial outbreak at three geriatric hospitals**. *J Infect Chemother* 2002, **8**:155-162.
121. Fang H, Lundberg C, Olsson-Liljequist B, Hedin G, Lindback E, Rosenberg A, Struwe J: **Molecular epidemiological analysis of Escherichia coli isolates producing extended-**

- spectrum beta-lactamases for identification of nosocomial outbreaks in Stockholm, Sweden. *J Clin Microbiol* 2004, **42**:5917-5920.
122. Boo TW, Walsh F, Crowley B: **Molecular characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter* species in an Irish university hospital: predominance of *Acinetobacter* genomic species 3.** *J Med Microbiol* 2009, **58**:209-216.
 123. Touati A, Achour W, Cherif A, Hmida HB, Afif FB, Jabnoun S, Khrouf N, Hassen AB: **Outbreak of *Acinetobacter baumannii* in a neonatal intensive care unit: antimicrobial susceptibility and genotyping analysis.** *Ann Epidemiol* 2009, **19**:372-378.
 124. Francey T, Gaschen F, Nicolet J, Burnens AP: **The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit.** *J Vet Intern Med* 2000, **14**:177-183.
 125. Vo AT, van Duijken E, Fluit AC, Gastra W: **A novel *Salmonella* genomic island 1 and rare integron types in *Salmonella* Typhimurium isolates from horses in The Netherlands.** *J Antimicrob Chemother* 2007, **59**:594-599.
 126. Ward CL, Wood JL, Houghton SB, Mumford JA, Chanter N: ***Actinobacillus* and *Pasteurella* species isolated from horses with lower airway disease.** *Vet Rec* 1998, **143**:277-279.
 127. Yakupogullari Y, Otlu B, Dogukan M, Gursoy C, Korkmaz E, Kizirgil A, Ozden M, Durmaz R: **Investigation of a nosocomial outbreak by alginate-producing pan-antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*.** *Am J Infect Control* 2008, **36**:e13-18.
 128. Starkey M, Rahme LG: **Modeling *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis in plant hosts.** *Nat Protoc* 2009, **4**:117-124.
 129. Weir TL, Stull VJ, Badri D, Trunck LA, Schweizer HP, Vivanco J: **Global gene expression profiles suggest an important role for nutrient acquisition in early pathogenesis in a plant model of *Pseudomonas aeruginosa* infection.** *Appl Environ Microbiol* 2008, **74**:5784-5791.
 130. Rubin J, Walker RD, Blickenstaff K, Bodeis-Jones S, Zhao S: **Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections.** *Vet Microbiol* 2008, **131**:164-172.
 131. Cipriano R, Vieira VV, Fonseca EL, Rangel K, Freitas FS, Vicente AC: **Coexistence of epidemic colistin-only-sensitive clones of *Pseudomonas aeruginosa*, including the blaSPM clone, spread in hospitals in a Brazilian Amazon City.** *Microb Drug Resist* 2007, **13**:142-146.
 132. Hamouda A, Vali L, Amyes SG: **Gram-negative non-fermenting bacteria from food-producing animals are low risk for hospital-acquired infections.** *J Chemother* 2008, **20**:702-708.
 133. Werckenthin C, Bottner A, Hafez HM, Hartmann K, Kaske M, Kehrenberg C, Kietzmann M, Klarmann D, Klein G, Krabisch P, et al: **[Cross-resistance between antimicrobial agents used in veterinary medicine: molecular background and practical consequences for susceptibility testing].** *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2005, **118**:471-480.
 134. Hamilton-Miller JM, Shah S: **Activities of ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin and sparfloxacin against speciated coagulase-negative staphylococci sensitive and resistant to fluoroquinolones.** *Int J Antimicrob Agents* 1997, **9**:127-130.
 135. Rocks A, Gerlach GF, Schwarz S: **[The implementation of the broth microdilution method to determine bacterial susceptibility to antimicrobial agents].** *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 2007, **120**:42-49.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. M.M. Wittenbrink für die freundliche Überlassung des Themas, die grosse Freiheit bei dessen Interpretation und Umsetzung sowie die grosszügige Gewährung der für diese Promotion benötigten Mittel.

Ganz herzlich danke ich Herrn PD Dr. L. Hölzle für die gute Betreuung und Unterstützung, die vielen Tipps und Ideen sowie für die ständige Erreichbarkeit während der gesamten Doktorarbeit.

Herrn Prof. Dr. Stefan Schwarz von der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft in Deutschland danke ich für die engagierte Unterstützung in der Erarbeitung des Layouts für die Resistenzprüfung mittels Bouillonmikrodilution, sowie die Auswertung und Interpretation der erhobenen Resultate.

Herrn PD Dr. A. Fürst danke ich für die Übernahme des Korreferats und die interessanten und lehrreichen Vorlesungen im Fach der Pferdechirurgie während dem Studium der Veterinärmedizin.

Vielen Dank auch den Mitarbeitern des Institutes für Veterinärbakteriologie für die Bereitstellung der Stammsammlung und die Einarbeitung ins Thema.

Weiterhin danke ich Birgit Reussner, die ich nicht nur beruflich, sondern auch privat kennen und schätzen lernen durfte. Ich wünsche Ihr viel Glück und Erfolg sowohl auf Ihrem beruflichen Weg in der tierärztlichen Praxis, als auch für Ihre privaten Pläne und Träume.

Ganz herzlich danken möchte ich auch all meinen Freunden und Bekannten, insbesondere Sophie, Barbara, Andrea und Christian für Ihre grossartige Unterstützung, auch in Zeiten der gesundheitlichen oder emotionalen Krise.

Mon mari Axel je remercie pour son amour et son soutien quotidien sans faille, qu'il m'ait permis de profiter de ses expériences personnelle comme professionnelle.

Last but not least richte ich meinen Dank an meine Brüder Beat und Stefan sowie meine Eltern Marianne und Allen für ihre bedingungslose Unterstützung in allen Lebenslagen.

DANKE

Lebenslauf

Name	Larissa Karin Fuchs-Vicart
Geburtsdatum	09.11.1981
Geburtsort	Zürich, Schweiz
Heimatsort	Basel BS und Greifensee ZH
1988 – 1994	Primarschule Greifensee
1994 – 2001	Kantonsschule Zürich Oerlikon
2001	Mittelschulabschluss: Maturität Typus B
2001 – 2007	Studium der Veterinärmedizin an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich, Schweiz
2007	Abschlussprüfung im Fach Veterinärmedizin an der Universität Zürich, Schweiz
2007 – 2009	Doktorandin am Institut für Veterinärbakteriologie der Vetsuisse-Fakultät der Universität Zürich
25. Mai 2009	